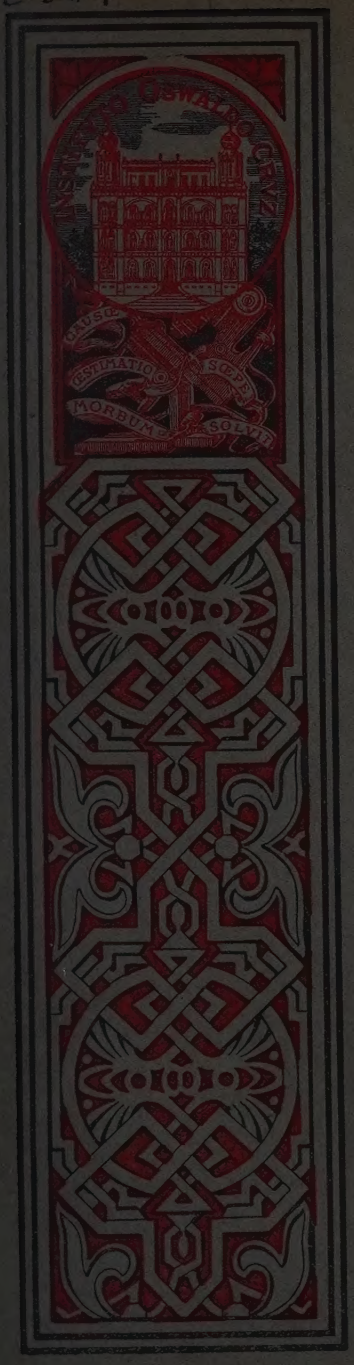
E.S.A.T



Ano 1943
Tomo 39
Fascículo 3

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1944
IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — BRASIL

ÍNDICE

Tomo 39 — Dezembro, 1943 — Fasciculo 3

ROMAÑA, C. — Contribuição ao conhecimento da patogenia da Tripanosomose Americana 253-264

DIAS, EMMANUEL e TORREALBA, J. F. — Verificação de flagelados semelhantes ao *Trypanosoma rangeli* Tejera, em *Rhodnius prolixus* alimentados em caso de doença de Chagas na Venezuela..... 265-278

SIMÕES, A. J. PINHO — Doença de Chagas no Estado do Paraná, Brasil.... 279-290

VILLELA, GILBERTO G. e PECCI, JOSÉ DANILO — Nota sôbre a dosagem iodométrica da vitamina C nos frutos cítricos..... 291-295

MIRANDA, CASSIO — Nota sôbre os transmissores da moléstia de Chagas ocorrentes no Estado do Maranhão, Brasil..... 297-300

DIAS, EMMANUEL e SEABRA, C. A. CAMPOS — Sôbre o *Trypanosoma conorrhini*, hemoparasito do rato transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata*. Presença do vector infectado na cidade do Rio de Janeiro 301-330

DIAS, EMMANUEL e NEVES, OSWALDO — Determinação da infecção natural por *Schizotrypanum* em *Triatoma rubrofasciata* no Estado de Pernambuco 331-334

JANSEN, GETH — Observações sôbre o combate à Esquistosomose humana em Pernambuco, no município de Catende..... 335-347

SOUZA-ARAUJO, H. C. DE — Preparo de Antígenos (Leprolinas Souza-Araujo) de culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de leprosos 349-355

SALLES, JONIO F. DE e LINHARES, HERMINIO — Adenocarcinoma cístico hemorrágico da glândula mamária de camondongo..... 357-360

CARDOSO, HUMBERTO T. — Estudos sôbre óleos de fígado de cação..... 361-383

SALLES, JONIO F. DE — Leucose linfóide hemocitoblastica da galinha..... 385-388

AZEVEDO, A. PENNA DE e SALLES, JONIO F. DE — Carcinoma metastico do baço 389-403

GUIMARAES, F. NERY e JANSEN, GETH — Um foco potencial de Tripanosomiase americana na cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal) 405-418

MELLO, MARIA ISABEL — Emprego do teste químico para o estudo da eliminação das gonadotropinas durante o ciclo menstrual..... 419-424

COUTINHO, J. O. — *Anopheles* (*Shannoniezia*) *costalimai* Fonseca e Ramos, 1940, novo nome e a redescrição da espécie (*Diptera-Culicidae*)... 425-434

COUCEIRO, ANTONIO — Lesões do ciatico na infecção experimental de cães pelo *Schizotrypanum cruzi* 435-439

ERRATA DE GILBERTO G. VILLELA 439

As **MEMÓRIAS,** orgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, editadas sob a direção do Dr. H. C. de Souza-Araujo, são reservadas, exclusivamente, à publicação de trabalhos nele realizados, e aparecerão em fascículos bimensais ou trimensais.

Toda a correspondência deverá ser dirigida à:

REDAÇÃO DAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 — ENDEREÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS", RIO
RIO DE JANEIRO — BRASIL

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 39 · Dezembro, 1943 · Fascículo 3

Contribuïção ao conhecimento da patogenia da Tripanosomose Americana

(Período inicial da infecção) (*)

Dr. C. Romaña

"Do que observamos parece podermos afirmar que o tripanosomida penetra na célula, multiplica-se por divisão binária, rompe a membrana e sai, motivando nessa ocasião reação grande, na qual, não raro, perecem células nervosas".

(GASPAR VIANNA)

(Com 18 figuras no texto)

O sintético e admirável parágrafo de Gaspar Vianna, acima transcrito, refere-se a lesões por êle encontradas no sistema nervoso central de enfermos que sucumbiram de tripanosomose americana aguda (1). Quando, no mesmo trabalho, descreve as lesões que encontrou no miocárdio e nos músculos estriados, manifesta idênticas idéias, se bem que em forma menos definida.

As experiências relatadas no presente trabalho levaram-nos à convicção de que os conceitos enunciados por Gaspar Vianna constituem fundada base explicativa para as principais lesões anatômicas, assim como para os mais importantes fenômenos patogênicos encontrados na moléstia de Chagas.

A primeira etapa da infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* num organismo novo, constituída pela multiplicação do parasito no ponto de entrada, é um fato básico demonstrado por EMMANUEL DIAS e bem conhecido desde seus primeiros trabalhos experimentais (2, 3, e 4).

(*) Trabalho do Instituto de Medicina Regional da Universidade Nacional de Tucumán, Argentina e da Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz.

* Recebido para publicação a 7 de outubro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

Considerando que é durante o período inicial da tripanosomose, ou melhor, da esquizotripanose, que se pode acompanhar da melhor maneira os fenômenos reacionários desencadeados pela invasão do organismo pelo *S. cruzi*, realizamos numerosas experiências em animais de laboratório que nos levaram a precisar a relação direta entre o parasito e a maior parte dos fenômenos inflamatórios observáveis na infecção.

As referidas experiências permitiram-nos observar como os fatos se desenrolam cronològicamente, bem como confirmar, por outros meios, conclusões anteriores baseadas no estudo de culturas de tecido, relativas à maturação e rutura dos ninhos intracelulares de *S. cruzi* (5).

Experiências efetuadas

No ano de 1941, durante nossa permanência no então Serviço de Estudo das Grandes Endemias, que devemos a honroso convite do saudoso Dr. Evandro Chagas, tivemos oportunidade de praticar inoculações de séries de camondongos brancos, aproximadamente do mesmo pêso e idade, com culturas de *Schizotrypanum cruzi* ricas em formas metacíclicas.

Para produzir a contaminação procedíamos à raspagem da pele ao nível da parte interna de uma das coxas, onde depositávamos gotas de cultura. Os animais eram fixados por meio de tiras de esparadrapo em uma tábua e cobertos com um pano até completa dessecação do material infectante. Um camondongo do mesmo lote e raspado do mesmo modo não era exposto à contaminação e servia como testemunha.

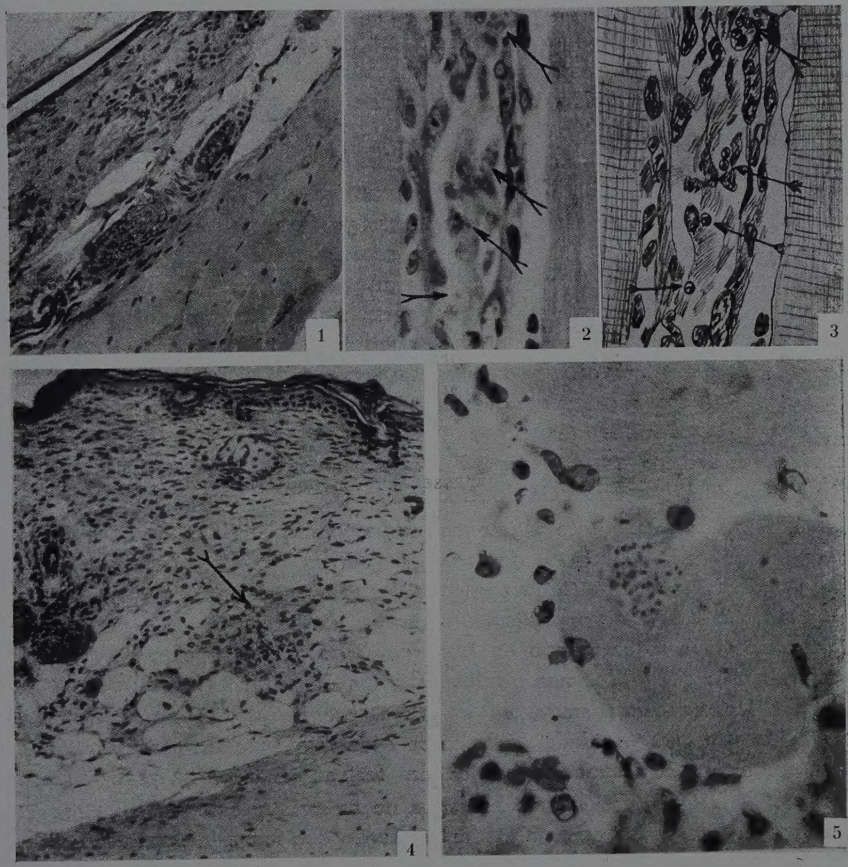
Das séries de camondongos utilizadas, uma foi particularmente valiosa para nossos estudos, pois os cortes histológicos obtidos evidenciaram com clareza os processos desenvolvidos. Os animais eram sacrificados a prazos variáveis depois da exposição ao contágio e retiravam-se pedaços de pele e tecidos subcutâneo do ponto de contaminação, para estudo anátomo-patológico. Usualmente empregamos a fixação pelo formol e a dupla coloração pela hematoxilina-eosina.

Os animais da série em questão levam os ns. 1.238, 1.237, 1.235 e 1.236 do fichário do laboratório do Dr. Emmanuel Dias, e foram sacrificados respectivamente 3, 5, 7 e 11 dias depois de contaminados com cultura. O camondongo testemunha, sem número, foi sacrificado no 6.º dia.

No camondongo 1.238, morto no 3.º dia, não pudemos verificar nos cortes nem a presença de formas de multiplicação do *S. cruzi* nem fenômenos inflamatórios (fig. 1).

O camondongo 1.237, sacrificado no 5.º dia, mostrava leishmanias e tripanosomas intracelulares no cório, tecido celular subcutâneo e músculos subjacentes, não havendo infiltração celular em tôrno das células parasitadas

íntegras. Discreta infiltração era observada em relação direta com os ninhos parasitários rotos, constituída por polimorfonucleares neutrófilos e eosinófilos (êstes em menor número do que aquêles), monocitos, alguns linfocitos e ligeira proliferação histiocitária (fig. 2 e 3).



N. 1 — Camondongo 1238, três dias. Pele do local contaminado, livre de reação celular e de parasitos.

N. 2 — Camondongo 1237, cinco dias. Foco de fagocitose no músculo da região contaminada, com parasitos.

N. 3 — Desenho esquemático da fig. 2 mostrando a localização dos parasitos.

N. 4 — Camondongo 1236, onze dias. Panderrnite e foco de fagocitose no tecido celular subcutâneo.

N. 5 — Camondongo 1236. Fibra muscular íntegra, subcutânea, parasitada, livre de reação celular.

Leishmanias podiam ser observadas no protoplasma de fagocitos cuja verdadeira natureza era difícil precisar.

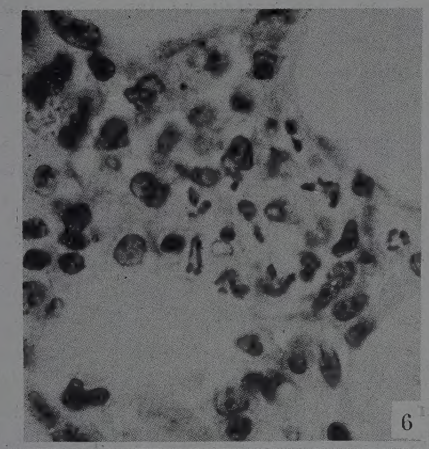
O camondongo testemunha, sacrificado no 6.º dia, não apresentava fenômenos inflamatórios nos cortes histológicos.

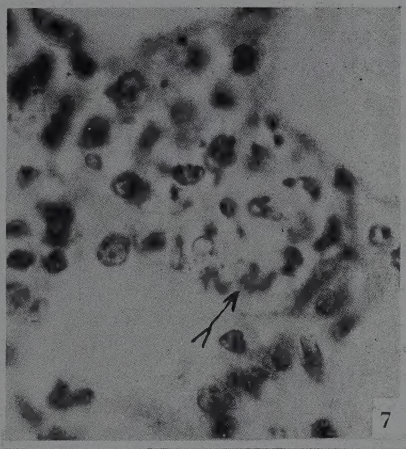
No camondongo sacrificado no 7.º dia, as células parasitadas eram mais numerosas do que nos demais infectados, anteriormente referidos. Em tôrno dos elementos íntegros não havia fenômenos reacionais. Também os focos infiltrativos eram mais abundantes; neles, além de células migradoras observava-se a presença de numerosas células de tipo histiocitário, algumas encerrando o *S. cruzi*.

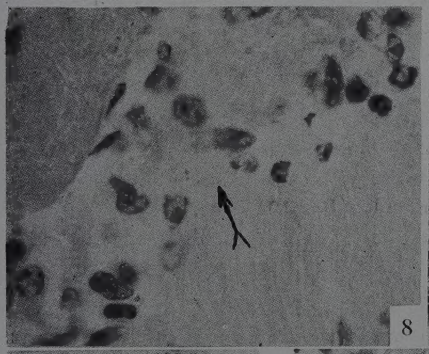
Por último, no camondongo sacrificado no 11.º dia (1.236) os fenômenos anteriormente descritos eram mais acentuados, em particular os infiltrados celulares que invadiam o cório, o tecido gorduroso subcutâneo e os músculos vizinhos (fig. 4). A inflamação era especialmente intensa no tecido gorduroso, onde eram numerosas as células adiposas parasitadas. Nos focos de infiltração abundavam os polimorfonucleares neutrófilos, monocitos e histiocitos mobilizados contendo no protoplasma leishmanias semi-destruídas ou íntegras (figs. 6-7). No músculo ocorriam fenômenos semelhantes, com fibras parasitadas íntegras sem reação em tôrno (fig. 5), enquanto que as destruídas ou rotas estavam invadidas por células migratórias que fagocitavam leishmanias e restos nucleares (figs. 8-9). Observavam-se também fibras em degeneração cérea com ausência de leishmanias (fig. 10).

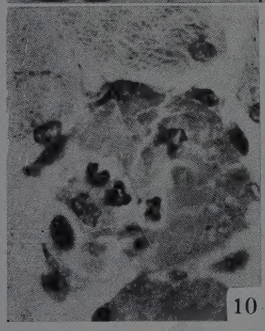
Nos preparados dêste último camondongo era ainda possível observar edema intersticial do cório e do tecido celular subcutâneo, bem como proliferação do tecido histiocitário denunciada por freqüentes figuras de mitose (fig. 12), e mobilização de grande número de histiocitos. O protoplasma dêstes mostrava-se carregado de finas gotículas aparentemente de gordura, possìvelmente originadas nas células adiposas destruídas (fig 11).

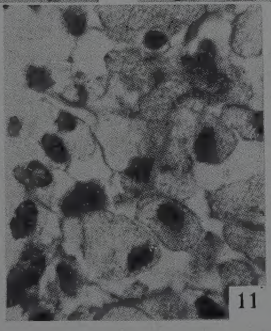
Os fenômenos inflamatórios descritos, progressivamente mais intensos à medida que a antiguidade da lesão se acentuava, podiam ser atribuídos a uma contaminação secundária partida das feridas causadas na pele pela raspagem. A falta de fenômenos análogos no animal testemunha e no sacrificado no 3.º dia, assim como a evidente relação dos focos infiltrativos com as células destruídas pelos parasitos, não eram argumentos suficientes para efastar a possibilidade indicada. Assim, renunciamos por algum tempo a dar a conhecer estas experiências, até que outras fôssem realizadas de modo a que nos puzessemos a coberto da causa de êrro constituída pelas infecções bacterianas intercurrentes originadas ao nível da região traumatizada. Com êste intuito, tentamos em diversas ocasiões a contaminação de camondongos adultos através a pele intacta, usando umas vêzes culturas, outras vêzes dejeções de

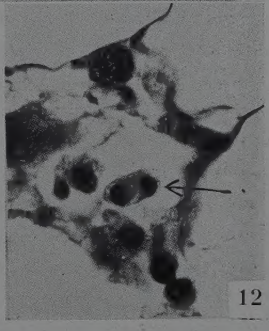












N. 6 — Camondongo 1236. Foco de fagocitose subcutâneo e infiltração celular, com leishmanias do *S. cruzi*.

N. 7 — Mesmo campo da fig. 6, em outro plano.

N. 8 — Camondongo 1236. Foco de fagocitose em fibra muscular em desintegração, com homogenização do protoplasma e invasão por células migradoras. A seta indica um macrófago com parasito.

N. 9 — Esquema da fig. 8.

N. 10 — Camondongo 1236. Fibra muscular com degeneração cérea e invasão por leucocitos neutrófilos em função fagocitária. Não se vêem parasitos.

N. 11 — Camondongo 1236. Histiocitos com protoplasma carregado de gotículas possivelmente de gordura.

N. 12 — Camondongo 1236. Histiocito em divisão no tecido subcutâneo.

barbeiros infectados com *S. cruzi*. Entretanto, os resultados foram negativos, pois nos animais ensaiados não encontramos leishmanias no ponto contaminado (retirado por biopsia) nem tripanosomas ao exame a fresco do sangue (o que, aliás, não exclue a possibilidade de infecções inaparentes).

Resolvemos, então, tentar a infecção percutânea em camondongos recemnascidos, pensando que a pele dos camondongos adultos representava uma barreira difícil de vencer para os tripanosomas metacíclicos.

Dois lotes de camondongos de um dia foram contaminados. O primeiro constava de quatro animais que foram envolvidos ao nível da região tóraco-abdominal por um pedaço de gaze impregnado de dejeções de barbeiro ricas em *S. cruzi* e assim mantidas juntas durante uma hora até completa dessecação do líquido.

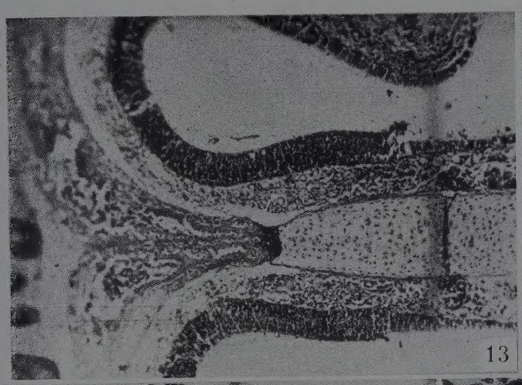
O camondongo n. 25 (fichário de nosso laboratório no Instituto de Medicina Regional de Tucumán) foi sacrificado no quarto dia após a contaminação; os outros três (26, 27 e 28) apresentaram tripanosomas no sangue no sexto dia, sendo sacrificados respectivamente no sexto, oitavo e 13.º dias. Em numerosos cortes histológicos, que compreendiam secções completas de torax e abdome dêstes animais, não puderam ser encontrados ninhos de multiplicação do *Schizotrypanum cruzi* ao nível da pele.

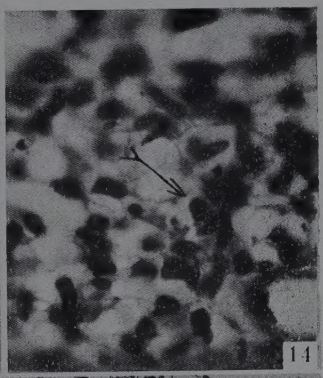
Diante dêste fato inesperado efetuamos a infecção de uma nova série de camondongos de um dia de idade (ns. 81, 82, 83, 84 e 85), colocando-as dentro de um tubo de Borrel contendo dejeções de triatoma ricas em formas metacíclicas. O líquido infectante era suficiente para molhar a superfície do corpo dos animais, sem entretanto submergí-los. Os camondongos foram sacrificados ao cabo de 5, 7, 9, 12 e 15 dias; desde o sexto dia seu sangue estava positivo. Também nesta série o exame histológico da pele foi negativo.

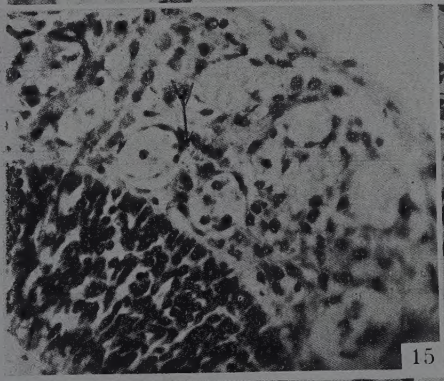
Em vista disto, decidimos efetuar cortes atingindo a bôca e o nariz dos animais dos dois últimos lotes. Tanto num como noutro lote, foi ao nível da zona olfativa das fossas nasais que se encontrou a porta de entrada da infecção. Aí se poude seguir nitidamente o processo de aninhamento do flagelado e o desenvolvimento da inflamação focal subseqüente, que em nada diferia do anteriormente descrito nos camondongos infectados pela pele.

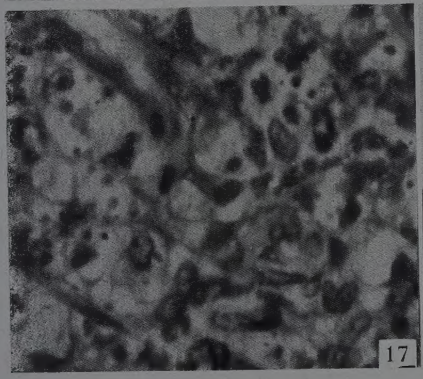
No camondongo sacrificado no quarto dia (n. 25) já se poude observar leishmanias nas células da camada epitelial e no cório da mucosa olfativa (fig. 13). Os ninhos parasitários estavam íntegros e não havia fenômenos inflamatórios. A parte anterior das fossas nasais, de tipo epitelial plano, não mostrou a presença de flagelados.

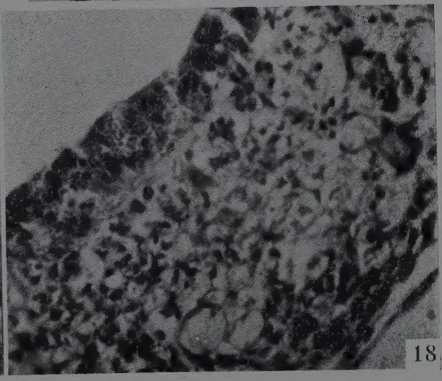
No camondongo morto no quinto dia (n. 81) já havia elementos arrebentados com fagocitose de leishmanias por células migradoras (fig. 14), e











N. 13 — Mucosa nasal de camondongo recem-nascido, principal via de penetração dos parasitos nas experiências relatadas.

N. 14 — Camondongo 81, cinco dias. Célula parasitada arrebentada, vendo-se leishmanias englobadas por um polimorfonuclear.

N. 15 — Camondongo 82, sete dias. Dilatação de capilares da mucosa nasal. Elemento parasitado arrebentado, indicando a seta leishmanias livres com células migradoras de permeio.

N. 16 — Reprodução esquemática da fig. 15.

N. 17 — Grande proliferação parasitária, com destruïção de leishmanias. Infiltração por polimorfonucleares e proliferação histiocitaria.

N. 18 — Intensa proliferação de leishmanias acompanhada de infiltração celular por histiocitos e polimorfonucleares.

ninhos de parasitos sob a forma de tripanosoma. Diversos focos inflamatórios compostos por polimorfonucleares, macrófagos e histiocitos apareciam no cório da mucosa. Fenômenos análogos foram observados no camondongo n. 26 (sexto dia).

O animal n. 82 (sétimo dia) mostrava ninhos de *S. cruzi* na mucosa do sépto, cornetos e zona olfativa. As células parasitadas eram muito mais fàcilmente localizáveis e abundantes do que nos precedentes, assim como os focos inflamatórios nos quais era fácil ver leishmanias e tripanosomas livres. Os capilares e precapilares da mucosa mostravam-se dilatados e congestos, podendo notar-se polimorfonucleares no interior (fig. 15-16). Parasitos foram localizados no pulmão (parenquima, brônquios e paredes de vasos), o que faz supor que neste animal o líquido infectante penetrou até o pulmão por aspiração. Nos demais órgãos não foram achados parasitos.

O camondongo n. 83 (9.º dia) mostrava na mucosa nasal grande quantidade de ninhos de *S. cruzi* e pronunciada infiltração por histiocitos e polimorfonucleares. Havia grande quantidade de leishmanias em vias de degeneração. No pulmão e no coração, escassas localizações parasitárias, possìvelmente estabelecidas por via endógena no primeiro e certamente no segundo órgão.

Nos camondongos sacrificados no 12.º, 13.º e 15.º dias os fenômenos descritos se acentuaram progressivamente.

Nas fossas nasais os ninhos de *S. cruzi* invadiam todos os tecidos superficiais e profundos em relação à mucosa (músculos, glândulas, tecido celular subcutâneo, etc.) chegando até às vizinhanças da pele e da mucosa bucal. Os fenômenos inflamatórios se intensificaram consideràvelmente, provocando a morte de grande número de células e de enorme quantidade de parasitos (figs. 17-18), desprendendo-se em certos lugares fragmentos de epitélio e de cório carregados de elementos degenerados. Além disto, em quase todos os órgãos dos camondongos havia parasitos, neles localizados pela generalização da infecção.

———

A contaminação através a pela raspada de macacos, cobaias e cãezinhos, com biopsias sucessivas do ponto de contaminação, já nos havia mostrado processos inflamatórios e de multiplicação do *S. cruzi* análogos ao que acabamos de descrever; porém, como as experiências foram feitas em condições análogas às do primeiro lote de camondongos deste trabalho, sua descrição seria repetição inútil. Além disto, êsses ensáios mereciam as mesmas restrições feitas a respeito dos primeiros camondongos, isto é, poderia ser aventada a

ocurrência de possíveis infecções secundárias ao nível do tegumento lesado, obstando a correta interpretação das reações locais à invasão pelo *S. cruzi*.

Não obstante, o encontro dos fenômenos descritos em outros animais de laboratório além dos referidos camondongos, reforça o valor das experiências efetuadas nestes últimos animais, já relatadas.

Discussão e conclusões

As experiências que vimos de relatar, realizadas com o fim de investigar os processos patogênicos iniciais da esquizotripanose, sugerem algumas considerações e permitem algumas conclusões interessantes sôbre diversas questões, como por exemplo o mecanismo de contaminação, o período de incubação, a formação dos fenômenos inflamátorios e as relações entre o parasito e as alterações patológicas determinadas por êle no ponto de penetração no organismo.

Em primeiro lugar, ressaltaremos a dificuldade da obtenção da infecção experimental em camondongos por contaminação da pele intacta com formas metacíclicas do *S. cruzi*, que se torna muito fácil havendo soluções de continuidade na barreira córnea tegumentar. Experiências anteriores já haviam deixado bem evidente êste fato: Cardoso (7), depositando dejeções de triatomas infectados em 20 camondongos, obteve infecção aparente em 10 cuja pele foi ligeiramente escarificada, ao passo que nos outros 10, cuja pele não foi tocada, não mostraram infecção aparente. Também Brumpt (8), trabalhando com 11 camondongos, jovens mantidos em atmosfera úmida durante três horas, conseguiu verificar a infecção em apenas um animal. Entretanto, se ao decorrer das presentes investigações não conseguimos a transmissão através a pele não escarificada, nas condições referidas, em ensaios inéditos com quatro camondongos obtivemos resultados positivos em três, renovando durante duas horas as dejeções contaminadas postas em contacto com a pele íntegra da parte posterior do pescoço.

Cabe ainda recordar que Dias (4) também relata em sua tese resultados positivos de infecção percutânea em cobaias (4 em 6) e em camondongos brancos (5 em 6).

Quanto ao que pudemos verificar com relação às mucosas, parece que a mucosa bucal dos camondongos jovens não é via de penetração tão favorável quanto a mucosa nasal, que é permeável sobretudo ao nível da zona olfativa. Demonstra-o o fato de que nove animais se infectaram por esta via, a julgar pela localização ao seu nível de abundantes formas parasitárias, permanecendo livre de células parasitadas a mucosa bucal. A contaminação ex-

perimental dêstes camondongos pela mucosa nasal é sugestiva de que o mesmo fato deva poder ocorrer nas infecções humanas, conforme já se tem suspeitado; deve pensar-se nesta possibilidade nos casos agudos recentes sem porta de entrada aparente, com o fim de procurar verificá-la.

Nas experiências relatadas pudemos observar como, durante o primeiro período de multiplicação intracelular do *Schizotrypanum cruzi*, não ocorrem fenômenos infiltrativos celulares, que só aparecem quatro ou cinco dias depois da contaminação, em seguida às primeiras ruturas de elementos celulares parasitados. Esta rutura pode dar-se não só quando os parasitos atingem a forma de tripanosoma, como também quando êles se acham sob a forma imatura de leishmania, conforme também o observamos em culturas de tecidos (5).

Observando em conjunto os resultados fornecidos por estas experiências, podemos dizer que os tripanosomas metacíclicos infectantes penetram nas células do ponto de contaminação (histiocitos do cório, células adiposas do tecido celular subcutâneo, fibras musculares vizinhas), onde se multiplicam ràpidamente. Confirmamos assim, mais uma vez, um fato fundamental para a patogenia da esquizotripanose, o de que *a principal sede da multiplicação parasitaria inicial constitue-se ao nível dos tecidos do ponto de penetração do flagelado* (Emmanuel Dias) (4). Quando se rompem as células parasitadas, os protozoários caem no meio intercelular, ganhando daí a circulação linfática ou sanguínea.

E' no momento da rutura celular que se observam os primeiros fenômenos inflamatórios, constantes da afluência ao local de numerosas células migratórias, leucocitos polimorfonucleares, monocitos, linfocitos e da mobilização e proliferação do tecido histiocitário regional. Observa-se o englobamento, por alguns dêstes elementos, de parasitos e de restos celulares, constituindo-se os pequenos nódulos infiltrativos a que se pode chamar *focos de fagocitose*.

Pôde-se apreciar que muitos dos parasitos englobados são destruídos no protoplasma dos fagocitos, que encerram restos de núcleos e de blefaroplastos; em outros casos a fagocitose é ineficaz, constituindo-se então novos ninhos de multiplicação intracelular, especialmente a expensas dos histiocitos. Formam-se assim focos de infiltração mais extensos, nos quais se observa uma mistura de células infiltrativas, de histiocitos proliferados e de novos ninhos parasitários.

Êstes fenômenos são mais visíveis depois do 5.º dia de contaminação. Como nem todos os parasitos intracelulares chegam à maturidade em quatro ou cinco dias, juntamente com os primeiros ninhos amadurecidos, é possível

observar-se nos dias subsequentes, junto aos focos de fagocitose descritos, células parasitadas íntegras livres de qualquer reação em tôrno.

À medida que aumentam em número as células destruídas pela multiplicação parasitária, aumenta a infiltração celular, adquirindo a reação um caráter mais difuso, onde é sempre possível identificar focos de fagocitose recentes. Esta infiltração se faz acompanhar de edema do cório, do tecido celular subjacente e de diapedese leucocitária através das paredes dos vasos que aparecem dilatados.

No tecido adiposo a inflamação adquire particular intensidade, vendo-se numerosas células gordurosas destruídas e invadidas por células migradoras no exercício de ativa fagocitose de leishmanias e de restos celulares.

Nos músculos vizinhos desenvolve-se uma miosite focal provocada também pela destruição das fibras musculares ou de outros elementos parasitados, seguida de migração célular. Algumas fibras mostram degeneração cérea e invasão por macrófagos, sem a presença de parasitos no seu interior; é possível que uma "noxina" libertada pela rutura e morte dos parasitos possa ser a causa determinante dos fenômenos degenerativos observados nestes casos (Mayer & Rocha Lima, 6). Outras mostram, além de degeneração, restos de leishmanias e fagocitos em atividade.

Poude observar-se, em geral, que nos cortes de péle retirados mais tardiamente o parasitismo celular e os *fenomenos inflamatórios focais recentes* eram mais acusados no tecido celular subcutâneo e nos músculos vizinhos do que nas regiões mais superficiais, nas quais eram mais notáveis fenômenos residuais infiltro-proliferativos.

E' interessante fazer notar a fugacidade das reações de tipo francamente agudo, acompanhadas de exsudação polimorfonuclear, que deve ser surpreendida imediatamente depois da rutura dos ninhos de *Schizotrypanum cruzi*.

Chama também a atenção a precocidade da reação histiocitária, que desde o primeiro momento adquire marcado caráter proliferativo que se acentua à medida que o processo se faz mais antigo.

Para concluir do exposto, consideramos perfeitamente exato o ponto de vista clássico de Gaspar Vianna a propósito da sucessão dos fenômenos de parasitismo e a reação provocada pelo *S. cruzi* nos vertebrados sensiveis, ao menos no que diz respeito à porta de entrada da infecção experimental.

Agradecimentos. — O autor expressa seu agradecimento ao Dr. Emmanuel Dias pelas facilidades de trabalho que lhe proporcionou no seu laboratório e pela tradução do presente artigo para o Português. Sinceramente agradece, também, ao Dr. Henrique Aragão, pela honrosa oportunidade, que lhe concedeu, de publicá-lo nas Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

REFERÊNCIAS

VIANNA, GASPAR

(1) 1911 — Contribuïção para o estudo da anatomia patológica da moléstia de Carlos Chagas. Esquizotripanose humana ou tireoidite parasitária. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 3 (2) : 276-294.

DIAS, EMMANUEL

(2) 1932 — Le *Trypanosoma cruzi* pendant les premières phases de l'infection expérimentale.
C. R. Soc. Biol., Paris, 110 : 203-205.

(3) 1932 — Le *Trypanosoma cruzi* et ses rapports avec le système réticulo-endothélial.
C. R. Soc. Biol., Paris, 110 : 206-210.

(4) 1934 — Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi.*
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 28 (1) : 1-111.

ROMAÑA, C. & MEYER, H.

(5) 1942 — Estudo do ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* em culturas de tecidos de embrião de galinha.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 37 (1) : 19-27.

MEYER, M. & ROCHA LIMA, H. DA

(6) 1912 — Zur Entwicklung von *Schizotrypanum cruzi* in Säugetieren. Arch.f. Schiffs.-u. Tropenhyg. 16 (4) : 90-93.

CARDOSO, F. A.

(7) 1938 — Sur le méchanisme de la transmission de la maladie de Chagas. Annales Parasit. Hum. & Comp. 16 (4) : 341-349.

BRUMPT, E.

(8) 1913 — Immunité partielle dans les infections à *Trypanosoma cruzi*. Transmission de ce trypanosome par *Cimex rotundatus*. Rôle régulateur des hôtes intermédiaires. Passage à travers la peau.
Bull. Soc. Path. Exotique, 6 : 173-177.

Verificação de flagelados semelhantes ao Trypanosoma rangeli Tejera, em Rhodnius prolixus alimentados em caso de doença de Chagas na Venezuela

Considerações sôbre a natureza dêste protozoário. (*)

por

Emmanuel Dias e J. F. Torrealba

(Com duas estampas no texto)

Enrique Tejera (1920) descreveu na Venezuela, sob o nome de *Trypanosoma* (ou *Crithidia*) *rangeli*, um flagelado que observou no conduto intestinal do *Rhodnius prolixus*, ora associado ao *Schizotrypanum cruzi*, ora isoladamente, levantando, desde então, a hipótese de que tal parasito tivesse também uma evolução no vertebrado. Poucos autores têm estudado êste flagelado, que foi mais tarde encontrado no mesmo hematófago na Colômbia, permanecendo ainda aberta a questão de seu possível hospedeiro definitivo.

Na presente nota damos algumas informações sôbre uma interessante amostra de *Schizotrypanum* isolada do homem em Zaraza, Venezuela, por xenodiagnóstico com *Rhodnius prolixus* de criação normal no laboratório, e relatamos as condições em que observámos parasitos com a morfologia do *T. rangeli* nos insetos alimentados no paciente, que meses antes havia passado pelo período agudo da moléstia de Chagas. Fazemo-lo com o principal intuito de chamar a atenção dos pesquisadores para o assunto, porquanto nossas observações, conforme se verá, são muito sugestivas de que o *Trypanosoma rangeli* é um *Schizotrypanum* patogênico do homem em seu período evolutivo do invertebrado transmissor.

O interêsse das amostras humanas de Schizotrypanum da Venezuela

As amostras de *Schizotrypanum* originárias do homem na Venezuela tornaram-se objeto de especial interêsse por parte de um de nós, desde que, estudando com Felix Pifano um parasito de morcêgo dêsse país, chegou à conclusão de que :

* Recebido para publicação a 28 de outubro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

"De todos os hemoparasitos de quirópteros bem estudados, é (o *Schizotrypanum* de *Hemiderma perspicillatum*) o que biològicamente mais se identifica ao *Schizotrypanum cruzi*. Dada a sua virulência, a ocorrência de seu hospedeiro no domicílio humano e a sua fácil transmissibilidade por reduvídeos, é provável que o tipo *phyllostomae* de *Schizotrypanum* venha a ser encontrado infectando o homem na natureza" (Dias & Pifano 1941, pág. 94).

Afim de verificar essa possibilidade, foi solicitado a diversos cientistas venezuelanos o envio de preparados de sangue ricos em esquizotripanos originários do homem, para que fôssem objeto de estudos biométricos (Dias & Freitas, 1943). Em virtude desta solicitação, foram enviadas (T.) ao Instituto Oswaldo Cruz algumas lâminas de sangue de cobaia injectada com sangue de um caso agudo de moléstia de Chagas de Zaraza, cuja observação já foi publicada mas que resumiremos em seguida.

Resumo da observação do caso n. 32, *Outubro de* 1940
(Torrealba, 1942)

Primitiva Leal, sexo feminino, 11 meses de idade, residente em rancho infestado por triatomídeos, em La Roqueña, a cinco léguas de Zaraza, Estado Guárico, Venezuela. Tem dois irmãos, um dos quais anos antes estivera edemaciado como a paciente. A mãe, 33.º caso de moléstia de Chagas dos observados por Torrealba, era um caso de forma cardiaca típica com 38 batimentos por minuto na ocasião, e que veio a falecer em junho de 1941 em arritmia completa. Contou a mãe que a menina aparecera doente 15 dias antes, com febre, diarréia e "calor na cabeça". Febre alta, contínua, sem sudorese e sem calefrios. Dez dias depois de iniciada a febre, começou a "inchar", apresentando edema generalizado (face, abdome, órgãos genitais externos, extremidades inferiores e superiores, dorso), micropoliadnite, secreção conjuntival e dacrioadenite bilateral. Pulso 160. Baço 1½ de Boyd, fígado crescido. Para a evolução do caso e o tratamento (emético e Bayer 7.602), consultar o trabalho original.

Na paciente foram realizadas as seguintes pesquisas de *Schizotrypanum* no sangue, com o respectivo resultado :

Exame a fresco: em 11-10-40, negativo; 11-11-40, positivo; 22-11-40, positivo, com notável aumento do número de tripanosomas.

Gota espessa : em 11-11-40, positivo; 30-12-40, negativo.

Inoculação em cobaia : em 12-11-40, positivo, mostrando o animal 40 e 50 dias mais tarde, enorme quantidade de esquizotrípanos no sangue, do qual

foram remetidos preparados a E. Dias e a outros pesquisadores; em 3-3-41, negativo.

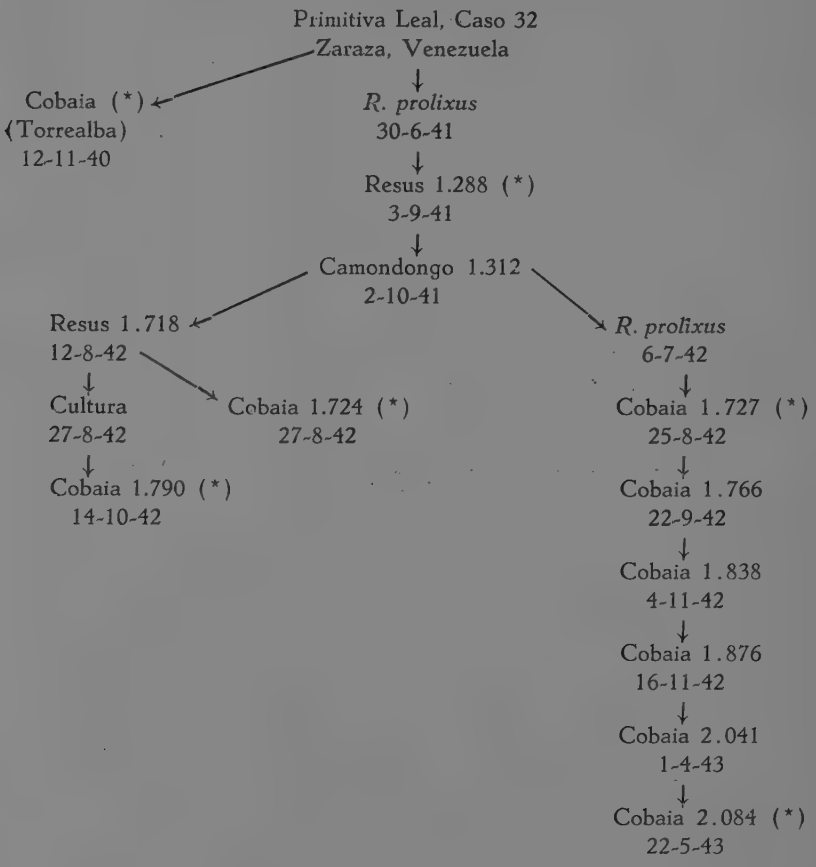
Xenodiagnóstico : em 30-12-40, positivo; 3-3-41, positivo e posteriormente à publicação do referido trabalho, em 30-6-41, positivo.

Este último xenodiagnóstico foi praticado expressamente como tentativa para isolamento do parasito, cujo estudo no sangue da cobaia revelara grande interêsse por tratar-se de um *Schizotrypanum* perfeitamente semelhante ao do morcego *Hemiderma perspicillatum*, diferente das amostras humanas até então estudadas por Dias e Freitas. Como os anteriores, o xenodiagnóstico foi praticado com diversos *Rhodnius prolixus* da criação do laboratório de Zaraza. Depois de verificado o resultado da prova, que foi positivo a despeito do tratamento instituído na paciente, os insetos foram enviados para o Rio de Janeiro por via aérea. O material chegou em muito boas condições e possibilitou o estudo do flagelado no inseto e o isolamento do mesmo em animais por inoculação inicial em résus.

Morfologia do parasito no sangue

E', como foi dito, semelhante à do *Schizotrypanum* do morcego da Venezuela, isto é, a amostra pertence ao tipo *phyllostomae* (Dias 1940, Dias & Pifano 1941), e será objeto de minucioso estudo em próximas publicações (Dias & Freitas). A amostra foi investigada não só nos preparados de Torrealba, onde o parasito foi medido em sangue de cobaia inoculada com sangue humano em 12-11-40, como em diversos animais infectados em Manguinhos, a partir da inoculação dos barbeiros que sugaram a mesma paciente em 30-6-41.

A genealogia da amostra de *Schizotrypanum* do caso 32 acha-se resumida no esquema junto, no qual estão assinalados (*) os animais em cujo sangue foram medidos tripanosomas, com resultados aliás muito constantes. As datas assinaladas referem-se ao dia de inoculação dos animais, da sucção por barbeiros normais ou da sementeira de culturas.



A referida amostra provoca infecções intensas em résus e em cobaias, sendo muito mais discretas as infecções em camondongos. Além das mencionadas foram feitas muitas outras inoculações, inclusive em morcegos (*H. perspicillatum*), com resultado positivo, mas neste esquema só consideramos as passagens que interessam aos animais de que foram tomadas amostras para medida. Nos tecidos encontram-se formas de multiplicação com o aspecto usual de leishmania. Do trabalho de Dias & Freitas adiantamos os seguintes dados sôbre as mensurações desta amostra humana, obtidos de 400 tripanosomas do sangue de diversos animais :

Distribuição de frequência (μ)

μ	3	4	5	6	7	8	9	10	11	*Min.*	*Max.*	*Média*
PN	—	—	5	133	204	37	21	—	—	5.4	9.7	7.4
NA	13	142	118	114	13	—	—	—	—	3.0	7.9	5.3
Fl	—	1	7	43	143	103	88	14	1	4.8	11.2	8.0

Comprimento total

μ	16	17	18	19	20	21	22	23	24	*Min.*	*Max.*	*Média*
	4	12	45	41	95	128	39	30	6	16.4	24.9	20.7

Indice nuclear (grupos de 0.5)

0.5-0.9	1.0-1.4	1.5-1.9	2.0-2.4
7	265	117	11

O índice nuclear médio deduzido dos 400 parasitos medidos foi de 1,4.

As convenções acima são PN = distância da extremidade posterior ao meio do núcleo, NA = do meio do núcleo à extremidade anterior, Fl = flagelo livre. Para detalhes sôbre a técnica empregada para a obtenção dos dados e mais informações sôbre o estudo biométrico dos *Schizotrypanum*, vêr Dias & Freitas 1943.

Morfologia do parasito no intestino de Rhodnius prolixus.

Dos insetos que sugaram Primitiva Leal em 30-6-1941, recebidos no Rio de Janeiro, os primeiros foram examinados no dia 3-9-1941, mostrando-se intensamente infectados por flagelados sob a forma de critidia e de tripanosoma metacíclico. As critidias são muito polimórficas e de tamanho variavel, e já ao exame a fresco chamavam a atenção as longas formas, sobretudo notáveis pela extremidade posterior comprida e afilada, a ponto de simular a extremidade flagelada. O núcleo destas formas "caudadas" acha-se colocado em situação variável, mas em geral está situado próximo à extremidade anterior (flagelada) do corpo, na união do quarto anterior com os três quartos porteriores. Adiante do núcleo e mais ou menos junto a êle está o blefaroplasto, que é um grânulo pequeno, arredondado, ou alargado, bem corado, do qual parte o flagelo aderente que se prolonga por um curto flagelo livre. O aspecto destes parasitos é melhor ilustrado pelas figuras dêste trabalho. De 33 formas de critídia não selecionadas, desenhadas à câmara clara, foram tomadas as medidas indicadas no quadro I.

QUADRO I

Medidas tomadas de 33 formas de critídia de R. PROLIXUS (*xeno caso* 32) (μ)

N.	PN	NA	Fl	Compr. total
1	42,1	13,4	9,1	64,6
2	56,1	7,9	10,3	74,3
3	51,8	10,9	9,1	71,8
4	50,0	12,8	10,9	73,7
5	42,7	9,1	10,3	62,1
6	19,5	15,2	7,3	42,0
7	24,4	9,1	12,2	45,7
8	59,8	6,7	7,9	74,4
9	30,5	8,5	5,4	44,4
10	43,9	12,2	12,2	68,3
11	28,6	19,5	12,8	60,9
12	17,0	6,7	7,3	31,0
13	22,5	14,0	7,9	44,4
14	29,9	13,4	10,9	54,2
15	38,4	12,8	9,7	60,9
16	44,5	10,9	11,5	66,9
17	34,1	12,2	8,5	54,8
18	34,7	16,4	6,1	57,2
19	26,1	15,8	4,8	46,7
20	38,4	13,4	9,1	60,9
21	52,4	10,3	11,5	74,2
22	54,2	17,0	5,4	76,6
23	17,6	13,4	10,3	41,3
24	36,6	12,2	9,7	58,5
25	54,2	15,2	8,5	77,9
26	16,4	9,1	7,9	33,4
27	51,2	14,6	10,9	76,7
28	56,7	11,5	6,1	74,3
29	27,3	9,7	12,2	49,2
30	18,3	11,5	8,5	38,3
31	17,0	3,0	16,4	36,4
32	19,5	14,6	7,3	41,4
33	24,3	9,1	9,1	42,5
Média	36,0	12,0	9,3	57,3

Expresão de variabilidade das dimensões das critidias é o elevado desvio padrão de 14,2 μ estabelecido para o comprimento total das 33 formas medidas.

Quanto aos tripanosomas metaciclicos observados no mesmo material são relativamente pequenos (média 17,7 μ de comprimento total) e têm o núcleo geralmente mais próximo á extremidade posterior do corpo, na união do têrço posterior com os dois terços anteriores; blefaroplasto volumoso, terminal ou subterminal; flagelo livre muito curto (3,0 μ). Estes dados numéricos referem-se apenas á 11 formas desenhadas e medidas.

Fato curioso e inesperado, as grandes critídias causadas, e de aspecto tão peculiar, só foram observadas nos barbeiros chegados da Venezuela e que haviam sido alimentados na doentinha Primitiva Leal. Nos *R. prolixus* e outras espécies de barbeiro que se infectaram em animais inoculados com a amostra obtida daqueles mesmos *Rhodnius* não nos foi dado verificar a presença daqueles formas bizarras, nem tão pouco em culturas desenvolvidas em meio de Noguchi. Não obstante, as formas sanguicolas do parasito conservaram as suas caracteristicas dimensionais através de passagens em animal, em barbeiro e em cultura (v. esquema genealógico). Sôbre êste fato, para o qual não podemos no momento dar uma explicação inteiramente convincente, voltaremos ao discutir os dados apresentados em confronto com outros, bem como ao analisar diversos aspectos ainda mal conhecidos da morfologia e da biologia do chamado *Trypanosoma rangeli.*

Se bem que muitas das questões ficarão ainda para resolver, satisfaz-nos a convicção de que de algum modo contribuimos para o seu esclarecimento, quando mais não seja pelo simples fato de focaliza-las, destacando-lhes as incógnitas e dificuldades.

Discussão

Assim que verificámos (E. D.) o aspecto morfológico das critidías dos *Rhodnius prolixus* alimentados no caso venezuelano de doença de Chagas e recebidos no Rio de Janeiro, notámos sua semelhança com algumas das formas representadas por TEJERA (1920) no trabalho em que descreve o *Trypanosoma* (*ou Crithidia*) *rangeli*. Entretanto, como nunca houvéssemos tido ocasião de observar êste flagelado, até hoje nunca encontrado no Brasil, deixámos o assunto neste pé, ocupando-nos mais da morfologia do tripanosoma no sangue dos animais do que com os flagelados intestinais do inseto.

Mais tarde, tomando conhecimento de recente trabalho de REY-MATIZ (1941), sôbre os flagelados do *Rhodnius prolixus* na Colômbia, notámos a grande semelhança entre as formas adultas de critídia do *Tripanosoma rangeli* por êle descritas e figuradas, com as observadas no nosso material.

Por uma feliz circunstância o proprio Dr. Enrique Tejera, hoje alta figura nos meios diplomáticos de seu país, em uma de suas passagens pelo Rio honrou a um de nós com uma visita especial ao seu laboratório no Instituto Oswaldo Cruz, onde, examinando atentamente os nossos preparados, declarou não ser outro senão o *Trypanosoma rangeli* o parasito que acabava de observar.

Em vista desta indiscutível opinião, retomámos com interêsse o estudo da questão, pois a amostra de parasito ainda estava sendo mantida no laboratório conservando fixos os seus caracteres morfológicos no sangue dos animais. Entretanto, tornando a examinar em condições variadas *R. prolixus* e outros triatomídeos que se infectaram sugando êsses animais, bem como investigando a evolução cultural da amostra , não mais foi possível surpreender formas parasitárias com as características das grandes critídias do *T. rangeli,* que observáramos no material original.

Duas hipóteses principais desde logo se apresentaram ao procurarmos explicar êste fato inesperado.

A primeira, a mais simplista, era a de que os insetos aplicados na paciente, embora procedessem de criação no laboratório, estivessem préviamente infectados com o *T. rangeli,* adquirindo uma infecção mista ao ingerir o sangue com *Schizotrypanum;* êste último ter-se-ia depois isolado por inoculação em animais, para os quais admite-se não ser patogênico o *T. rangeli.* Esta hipótese, porém, pode ser afastada de modo quase absoluto, pois os *Rhodnius* da criação de Zaraza são de pureza repetidamente controlada e neles nunca se verificou a contaminação por flagelados antes de serem deliberadamente expostos à infecção. Esta hipótese é aquí aventada apenas para não deixarmos de considerar a possibilidade desta causa de êrro, que além do mais prejudicaria grande parte do trabalho de um de nós que largamente se tem utilizado do xenodiagnóstico em seus estudos sôbre moléstia da Chagas na Venezuela, servindo-se dos insetos desta criação.

A segunda hipótese era a de que as grandes critídias, descritas como .peculiares ao *T. rangeli,* fôssem formas atípicas, inconstantes do ciclo evolutivo de um *Schizotrypanum* no transmissor, e que apareciam em condições indeterminadas (influência do hospedeiro vertebrado? da alimentação repetido ou de jejum do inseto? das condições do meio ambiente? etc.). Se assim é, essas condições hipotéticas não mais se produziram de modo a facultarnos a observação das formas evolutivas características, vistas nos *Rhodnius* diretamente alimentados no homem, na mesma amostra de parasito conservada em animais e passada periòdicamente em barbeiros.

Para não prosseguir no terreno das conjecturas, deixaremos assinalado que a um de nós (D.) nunca foi dada outra oportunidade de observar flagelados com a morfologia do *T. rangeli*, quer em barbeiros infectados em natureza, que em barbeiros que sugaram pessoas ou animais natural ou experimentalmente infectados. A êste respeito merecem especial referência as amostras de *Schizotrypanum* biomètricamente semelhantes á do caso 32, que são originárias do morcêgo *Hemiderma perspicillatum* da Venezuela, de *Triatoma infestans* da Bolivia e de *Rhodnius prolixus* da Guiana Francesa (cf. DIAS & TORRICO 1943, pág. 170). Tendo tido ocasião de estudar recentemente o *Trypanosoma conorrhini*, podemos dizer que não vimos aquelas grandes formas em barbeiros com êle infectados (DIAS & CAMPOS SEABRA, 1943).

Um fato interessante referido por TEJERA (1920) é o de que as formas de *T. rangeli* parecem ser pouco resistentes no inseto, desaparecendo quando o jejum dêste se prolonga por mais de dois meses, o que não acontece com as formas de *S. cruzi*, segundo o mesmo autor.

Passamos a analizar agora alguns aspectos da morfologia do parasito, considerando particularmente a questão das formas metacíclicas do *T. rangeli*.

As que como tal têm sido descritas, tanto no clássico trabalho de TEJERA (1920) como no de REY-MATIZ (1941), não correspondem de modo algum às que nos foi dado observar no material de *R. prolixus* de xenodiagnóstico de caso humano. Segundo TEJERA, as formas "que nous croyons pouvoir interpreter comme trypanosomes metacycliques" (fig. 14-15-16 de seu artigo) são muito maiores do que as nossas, medindo 25 a 35 μ e mesmo mais de 40 μ segundo uma das formas desenhadas; além disto o seu blefaroplasto acha-se muito próximo ao núcleo e distante da extremidade posterior, a ponto do autor considerar mesmo possível a inclusão do flagelado no gênero *Crithidia*, "puisque le blépharoplaste n'est jamais eloigné du nucleus". Ao contrário, os tripanosomas metacíclicos, que encontrou ao lado das critídias do *T. rangeli* e que considerou como pertencendo à evolução do *S. cruzi* (fig. 5 e 6 de TEJERA), são muito semelhantes aos que observámos e descrevemos no nosso material, considerando-os porém como o estádio tripaniforme final do flagelado, cujos estádios evolutivos anteriores morfològicamente se assemelhavam aos períodos correspondentes do *T. rangeli*.

REY-MATIZ (1941) não caracterizou com muita precisão as formas que considerou como metacíclicas dêste flagelado. Consigna-lhes o comprimento total de 43 μ, referindo que elas só diferem das critidias "adultas" pela colocação do blefaroplasto, que sempre se encontra muito perto do núcleo, e pelo comprimento da membrana ondulante.

Como só se tem estudado o flagelado de Tejera em *Rhodnius prolixus* naturalmente infectados em regiões onde o *S. cruzi* é muito freqüênte, achando-se ambos associados muitas vezes no mesmo inseto, parece-nos ser esta a razão pela qual até agora não tenham sido descritos tripanosomas metacíclicos *típicos* na evolução do *T. rangeli*, sendo estas formas, sempre que presentes, consideradas como de *S. cruzi*. Se de fato, como supomos, as formas metacíclicas do chamado *T. rangeli* são pequenas e semelhantes às de um *Schizotrypanum*, então será impossível dizer-se, ao exame de um material com tais formas ao lado de grandes critídias caudadas, se se trata de sòmente *T. rangeli* ou se há uma infecção mista. Mais adiante voltaremos a êste particular, ao abordarmos a questão da infectividade deste flagelado. Na verdade as únicas formas características do *T. rangeli* são as grandes critídias "adultas", já que as pequenas, as "jovens", são em tudo semelhantes às formas correspondentes do *S. cruzi* (Rey-Matiz 1941, pág. 36).

A propósito ainda da morfologia do *T. rangeli*, seja mencionado que Gaminara (1923) julga não se poder formar uma idéia exata dêste parasito "por no conocerse todavia la forma tripanosoma", podendo suceder sejam as critídias as que se supõe incapazes de infectar o vertebrado (pág. 18). Por outro lado o mesmo autor, estudando a morfologia de *S. cruzi* das "vinchucas" do Uruguai, distingue três categorias de formas critidianas, as maiores das quais podem chegar a 50 e 60 μ e possuem ambas as extremidades muito ponteagudas: "estas formas son muy parecidas a las encontradas por Tejera en *Rhodnius prolixus*".

Pasamos, finalmente, à questão da não infectividade do *T. rangeli* para os animais de laboratório. Ela é referida por Brumpt (1927) e admitida pelos autores em geral, embora sem estar suficientemente provada. Ainda mais, as condições para essa prova são irrealizáveis nas circunstâncias usuais de pesquisa, isto é, pela inoculação de insetos naturalmente infectados. De fato, como só se tem trabalhado em regiões onde os *Rhodnius* se apresentam parasitados pelo *S. cruzi* e pelo *T. rangeli*, nunca poderá ser assegurada com tôda a certeza, pelo exame microscópico de uma amostra do material a inocular, a existência de sòmente um dos parasitos em questão, à exclusão do outro, tanto mais quanto sua distinção morfológica nem sempre é fácil, ou mesmo sempre possível.

Forçoso será portanto que, admitindo-se o *T. rangeli* como uma boa espécie e não infectante para os animais, sempre que se obtenha uma inoculação positiva de *Rhodnius* com êle infectado, o resultado seja atribuído a uma associação com o *S. cruzi* no transmissor. Rey-Matiz (1941), por exemplo, refere resultados de inoculação de sete lotes de *R. prolixus* da Colômbia em

camondongos. Em cinco lotes, cuja inoculação foi positiva, o *S. cruzi* está sempre presente nos resultados dos exames dos insetos, ora só, ora juntamente com o *T. rangeli;* porém, nos dois lotes cuja inoculação foi negativa (compostos ao todo por 80 *Rhodnius,* dos quais 33 parasitados), não figura o *S. cruzi,* mas sòmente o *T. rangeli.* E' pois lícito perguntar-se, nestes casos, se o resultado da inoculação não terá sido levado em conta na classificação dos flagelados, com base no critério apriorístico da não infectividade do *T. rangeli.*

Vemos, então, que não dispomos de elementos para afirmar a não transmissibilidade dêste protozoário a animais. Entretanto, sendo êle hóspede freqüente do tubo digestivo de um inseto estritamente hematófago, como o é o *Rhodnius prolixus,* deve ser um parasito digenético, como aliás o presume também Rey-Matiz (1941, pág. 34): "El muy possible huésped vertebrado de este protozoário no se ha encontrado todavia; los numerosos ensayos de inoculacion a numerosas especies animales han dado siempre resultados negativos".

Interessante referência ao assunto se encontra no trabalho de Pifano (1941, pág. 1.132):

"Algunos de los flagelados estudiados revelaron una estructura muy parecida a *Trypanosoma triatomae* Kofoid & McCulloch 1916 y a *Trypanosoma* (o *Crithidia*) *rangeli* Tejera, 1919. Se trataba, no obstante, de formas evolutivas atipicas de *Schizotrypanum cruzi* en el transmisor, ya que las inoculaciones experimentales demostraron flagelados en la sangre periferica morfologicamente identicos al hemoflagelado de Chagas, con histologia patológica positiva en miocardio para formas leishmanias de multiplicación de *Schizotrypanum.* La prueba biológica confirmaba de esta manera la sospecha parasitológica."

Quanto ao *Trypanosoma triatomae,* dos barbeiros dos Estados Unidos, já sabemos ser na realidade um *Schizotrypanum* (Kofoid & Donat 1933), e quanto ao *T. rangeli* é provável que também o seja, se bem que disto ainda não tenhamos a prova definitiva. Se por nosso lado encontrámos formas que podemos considerar como de *T. rangeli* em barbeiros alimentados num doente de Chagas, Pifano constatou o aparecimento de *S. cruzi* no sangue e nos tecidos de animais inoculados com flagelados com a morfologia de *T. rangeli.* E' bem verdade, porém, que resultado idêntico ao último poderá ser obtido na hipótese de ser êste parasito uma boa espécie e não infectante para o animal, quando houver associação com o *S. cruzi* no transmissor, conforme já referímos.

Se na verdade as formas características do *Trypanosoma rangeli* são formas inconstrantes da evolução de um *Schizotrypanum*, resta saber as condições que determinam o aparecimento dêstes flagelados tão bizarros e na realidade tão diferentes das formas critidianas comuns do *Shizotrypanum cruzi* e de outros parasitos do mesmo gênero.

Sumário e conclusões

1) — Por inoculação do sangue de um caso agúdo de moléstia de Chagas de Zaraza, Guárico, Venezuela, em cobaia (12-11-1940), obteve-se um *Schizotrypanum* com caractéres morfológicos distintos dos das amostras humanas comuns do *Schizotrypanum cruzi;* seu índice nuclear médio varia em tôrno de 1.4 e seu comprimento total médio é de 20-21 μ (Dias & Freitas).

2) — Praticando-se, em 30-6-1941, no mesmo caso, o xenodiagnóstico com *Rhodnius prolixus* procedentes de criação normal de laboratório, verificou-se, nos barbeiros enviados para o Rio de Janeiro e dissecados 65 dias depois da sucção no paciente, a presença de flagelados com o aspecto do *Trypanosoma rangeli* Tejera, ao lado de tripanosomas metacíclicos semelhantes aos de *Schizotrypanum*.

3) — Por inoculação do conteúdo intestinal dêstes *Rhodnius* em résus, isolou-se uma amostra de *Schizotrypanum* cujas formas sanguicolas tinham os mesmos caracteres da amostra obtida por inoculação do sangue do paciente em cobaia.

4) — No tubo digestivo de *Rhodnius prolixus* e de outros barbeiros criados no laboratório e infectados com a amostra de *Schizotrypanum* isolada por xenodiagnóstico, não foram observadas as formas características do *Trypanosoma rangeli,* mas apenas crítidias e tripanosomas metacíclicos aparentemente indistinguíveis dos de amostras comuns de *Schizotrypanum*.

5) — Diante dos fatos referidos, sugere-se a hipótese de ser o *Trypanosoma rangeli* um *Schizotrypanum* patogênico do homem em seu ciclo no transmissor intermediário, alguns de cujos aspectos evolutivos são inconstantes e aparecem em circunstâncias indeterminadas.

English summary

1) — In the blood of a guinea-pig inoculated with blood from an acute case of Chagas' disease in November 12, 1940 a *Schizotrypanum* appeared, which was found (Dias and Freitas) to be morphologically different from usual human strains of *Schizotrypanum cruzi* by its "mean nuclear index" (= 1.4) and its mean total length (= 20-21 μ).

2) — Large crithidiae with the morphology of *Trypanosoma rangeli* TEJERA and metacyclic forms of *Schizotrypanum* have been observed in the faeces of laboratory-bred *Rhodnius prolixus*, sixty-five days after feeding on the same patient on June 30, 1941.

3) — A strain of *Schizotrypanum*, identical to the one observed in the guinea-pig injected with the patient's blood, has been isolated through the inoculation of intestinal contents of the so infected *Rhodnius prolixus*.

4) — In the gut of *Rhodnius prolixus* and other species of kissing bugs which fed upon animals infected with that strain, only *cruzi*-like flagellates have been encountered, not *rangeli*-like ones.

5) — The hypothesis is suggested that *Trypanosoma rangeli* is a pathogenic human *Schizotrypanum* and that certain of its forms in the insect vector are rather inconstant ones, the conditions that determine their appearance being unknown.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUMPT, E.

1927. Eclécticisme alimentaire des Reduvidés vecteurs de *Trypanosoma cruzi*. Prèsse Médicale 35 (77) : 1.161-1.162.

DIAS, E.

1940. Sôbre um *Schizotrypanum* dos morcegos *Lonchoglossa ecaudata* e *Carollia perspicillata* do Brasil. Memórias do Inst. Oswaldo Cruz 35 (2) : 399-409.

DIAS, E. & FREITAS F°., L.

1943. Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do gênero *Schizotrypanum*. I — Introdução, material e técnica, problema e métodos estatísticos. Memórias do Inst. Oswaldo Cruz. 38 (3) : 427-436.

DIAS, E. & PIFANO C., F.

1941. Estudo experimental de um *Schizotrypanum* do morcego *Hemiderma perspicillatum* da Venezuela. Memórias do Inst. Oswaldo Cruz, 36 (1) : 79-98.

DIAS, E. & CAMPOS SEABRA, C. A.

1943. Sôbre o *Trypanosoma conorrhini*, parasito do rato transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata*. Presença do vector infectado no Rio de Janeiro, D. F. Memórias do Inst. Oswaldo Cruz, 39 (3) : 303-330.

DIAS, E. & TORRICO, R. A.

1943. Estudos preliminares sôbre a doença de Chagas na Bolívia. Memórias do Inst. Oswaldo Cruz 38 (2) : 165-172.

GAMINARA, A.

1923. Estudio experimental sôbre *Schizotrypanum cruzi* y enfermedad de Chagas en el Uruguay.
An. Fac. Med. Montevidéo, 8 : 311-359.

KOFOID, C. A. & DONAT, F.

1933. Experimental infection with *Trypanosoma cruzi* from intestine of cone-nose bug, *Triatoma protracta*.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 30 : 489-491.

PIFANO C., F.

1941. La enfermedad de Chagas en el Estado Yaracuy, Venezuela. Caracas Med, 8 (19) : 1.103-1.166.

REY-MATIZ, H.

1941. Observaciones sobre Trypanosomas en Colombia Rev. Fac. Med. (Bogotá) 10 (1) : 25-49.

TEJERA, E.

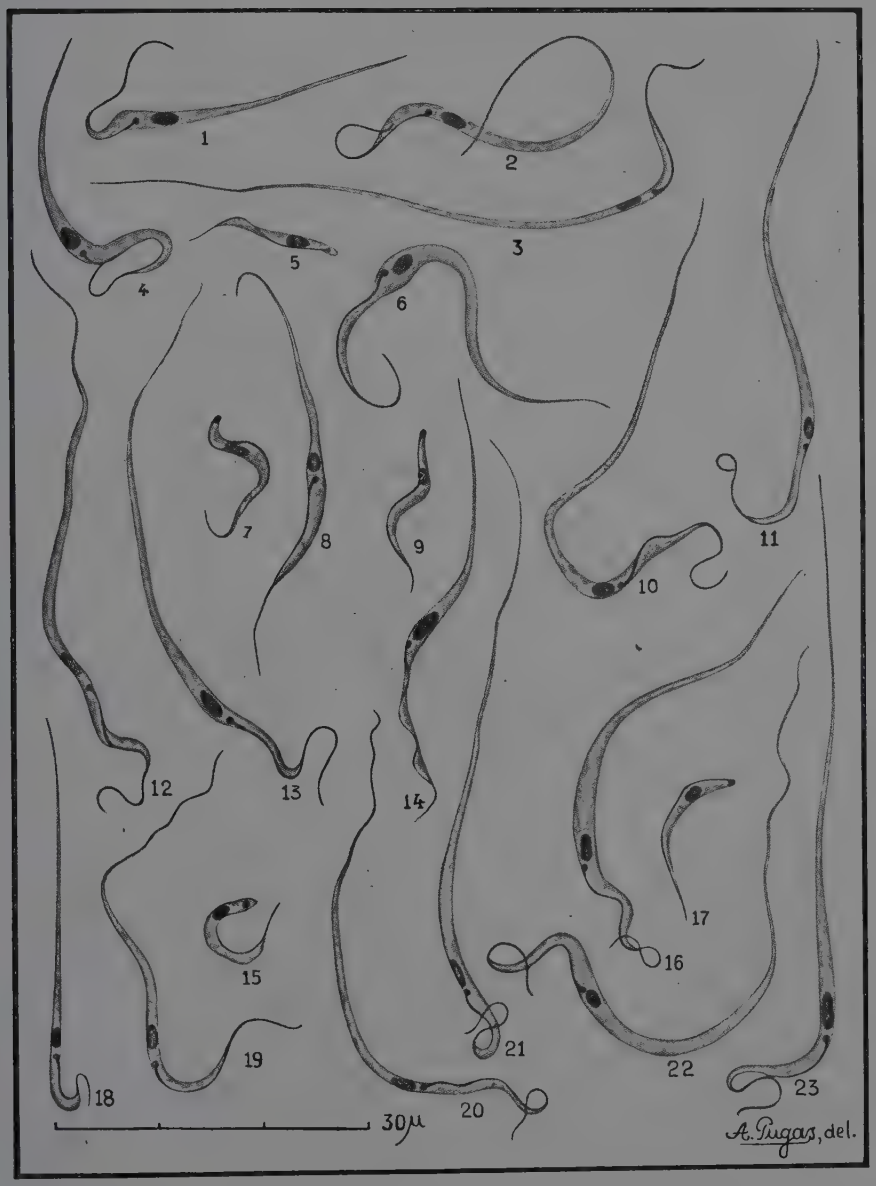
1920. Un nouveau flagellé de *Rhodnius prolixus, Trypanosoma* (ou *Crithidia*) rangeli, n. sp.
Bull. Soc. Path. Exotique 13 : 527-530

TORREALBA, J. F.

1942. Investigación sobre enfermedad de Chagas en Zaraza. Doce nuevos casos comprobados, nueve agúdos com *S. cruzi* en la sangre, comprobados por gota gruesa y tres cronicos comprobados por xenodiagnostico (Comprobaciones desde el caso 31.° hasta el 42.° de los trabajos del autor) — Nueve lotes de triatomideos de diversos lugares de Guárico y Anzoátegui examinados.
Revista Policlínica Valencia 1 (4) : 161-178.

ESTAMPA 1

Figs. 1-23 — Flagelados do conteúdo intestinal de *Rhodnius prolixus* que em 30-6-1941 sugaram Primitiva Leal, caso de doença de Chagas em Zaraza, Venezuela, e foram enviados para o Rio de Janeiro onde foram dissecados em 3-9-1941. Tripanosomas metacíclicos (5-7-9-15-17) e formas de critídia consideradas morfològicamente semelhantes às grandes critídias do *Trypanosoma rangeli* Tejera. Fixação pelo álcool absoluto, coloração pelo Giemsa. Marcação à câmara clara e cobertura em claro-escuro (A. Pugas).

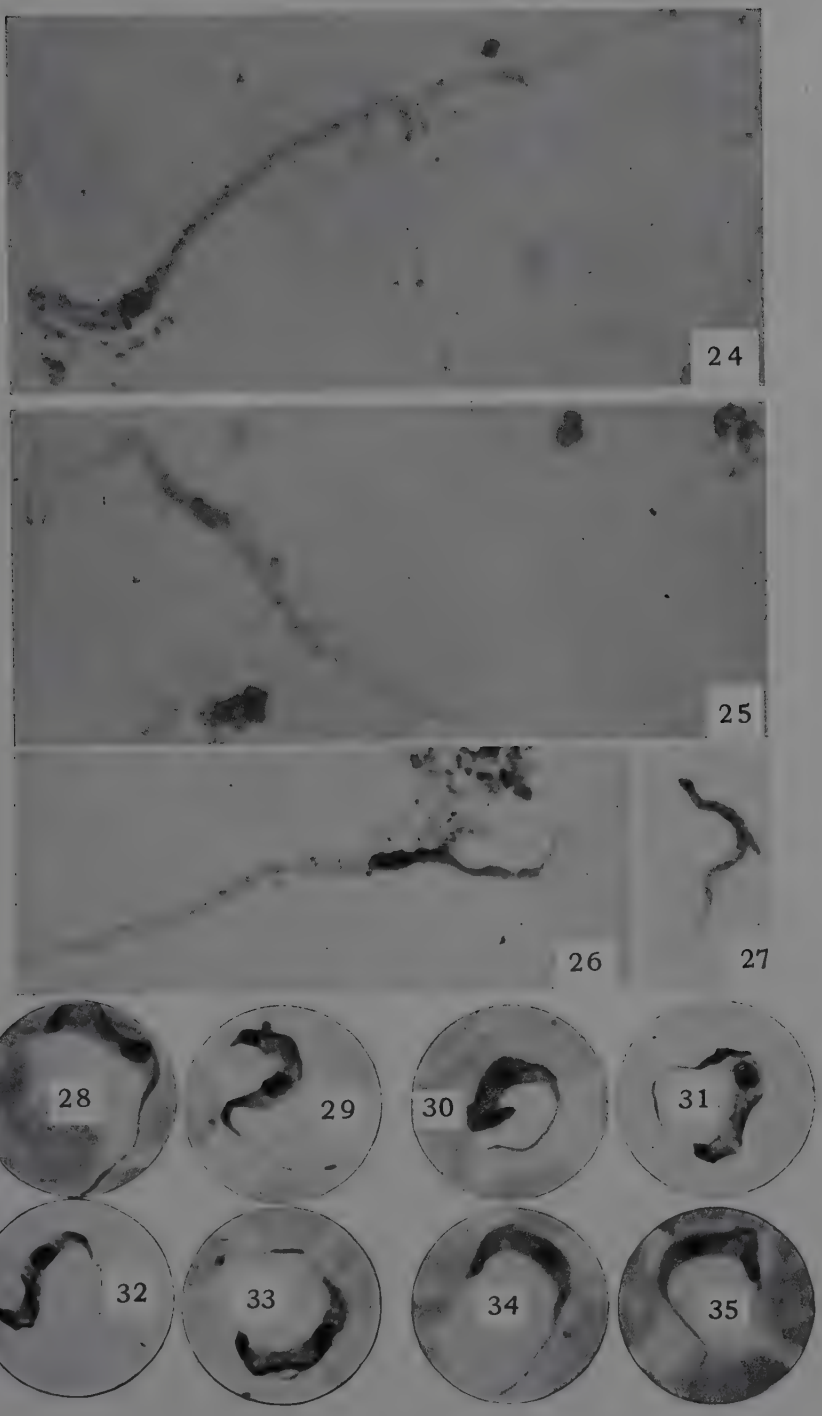


Dias & Torrealba: Trypanosoma Rangeli

ESTAMPA 2

Figs. 24-27 — Fotografias de flagelados do mesmo material mostrando formas de critidia (24-25-26) e tripanosoma metacíclico (27). Aumento 1700 mezes. Foto M. Cesar.

Figs. 28-35 — Fotografias de esquizotrípanos do sangue de cobaia inoculada com sangue de Primitiva Leal em 12-11-1940; lâminas tomadas 50 dias depois da inoculação. 1700 vezes. (M. Cesar).



Dias & Torrealba: Trypanosoma Rangeli

Doença de Chagas no Estado do Paraná, Brasil

Esboço epidemiológico (*)

por

A. J. Pinho Simões

(Com uma estampa no texto)

Atendendo ao "Apêlo aos clínicos do interior para a colaboração no estudo da doença de Chagas", do Dr. Emanuel Dias (1942), vários colegas do Estado do Paraná enviaram à Secção de Inquéritos e Trabalhos de Campo (da Divisão de Estudos de Endemias — Instituto Oswaldo Cruz), sob a direção dêsse pesquisador, material entomológico (*Hemiptera, Reduviidae*) para classificação e exame.

Isto nos possibilitou o conhecimento de alguns dados interessantes sôbre a epidemiologia daquela doença nesse Estado e demonstra o interêsse científico e o espírito de colaboração dos médicos brasileiros disseminados pela vastidão do nosso território. Cremos que a campanha de divulgação iniciada por Emmanuel Dias, ainda no tempo do Serviço de Estudo das Grandes Endemias (atual D.E.E.), trará grandes resultados ao estudo da esquizotripanose em nosso país. Divulgando aos médicos do interior os conhecimentos atuais e clássicos sôbre a doença descoberta por Carlos Chagas e facilitando-lhes fontes bibliográficas com a remessa de *separata* de trabalhos sôbre o assunto, como também meios de comprovação diagnóstica pelos exames de laboratório, nem sempre possíveis na clínica rural, é de se esperar que essa campanha patriótica e desinteressada dê os melhores resultados, não só para a casuística da doença, como para o conhecimento epidemiológico da mesma, fornecendo dados sôbre a distribuïção de novos focos a estudar. O presente trabalho é já uma prova disso.

A remessa de material entomológico especializado é, pois, de grande importância para a Sc. I. da D.E.E., contribuindo para o levantamento dos focos chagásicos de todo o território brasileiro e orientando a seleção dos mesmos para inquéritos epidemiológicos e estudos profiláticos a serem realizados por esta Secção, em colaboração com os elementos locais que com ela mantêm contacto.

* Recebido para publicação a 1 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

No caso do Paraná, o material remetido, embora desde há pouco tempo e, porisso mesmo, relativamente escasso, nos permitiu o conhecimento de vários focos em seis municípios, onde não havia até então nenhuma referência sôbre o assunto. Para se julgar melhor o valor dêsses novos dados, basta citar que, desde a descoberta da doença, no ano de 1909, até o presente, a bibliografia a respeito assinala sòmente seis municípios infestados, como a seguir veremos. (Quadro III).

Procurando saber as espécies transmissoras assinaladas no Paraná e a sua distribuïção geográfica, iniciámos a pesquisa bibliográfica pelo trabalho de conjunto mais recente, de NEIVA e LENT (1941). Êsses autores referem apenas duas espécies: *T. infestans* e *P. megistus,* tanto na lista de espécies (pág. 87) como na lista de Estados (pág. 89). Entretanto, sabiamos ter sido assinalada nesse Estado, há muitos anos, a presença de *T. sordida,* por LUTZ e SOUZA-ARAUJO (1918), durante uma viagem científica de janeiro a março dêsse ano. Assim é que à pág. 109 de seu relatório, extraído dos diários de viagem dêsses dois autores, encontra-se : "Passámos a noite em Iguassú. Na manhã seguinte achámos um *Conorrhinus sordidus* afogado numa bacia de lavar as mãos".

Quem primeiro encontrou o transmissor da doença de CHAGAS no Paraná parece ter sido SOUZA ARAUJO, em 1917, conforme o seguinte trecho do mencionado relatório, escrito por êsse pesquisador: "O grande fóco de *Barbeiros* (*Triatoma megista* BURM.) que descobrimos no Norte do Estado do Paraná (Abril 1917) está espalhado pelas duas velhas aldeias, Jatahy e São Pedro d'Alcantara, situadas nas margens do rio Tibagy. Nessas duas velhas colonias militares, do tempo do imperio, só encontrámos *Triatoma megista* e, como de regra, em grande abundancia, em todas as velhas casas com paredes de barro (chamadas paredes francezas) habitadas ou não". (pág. 129).

Depois de referir a concomitância do bócio em quase tôdas as casas dessa região escreve o autor à pág. 130: "Infelizmente o lote de *barbeiros* que nessa ocasião enviámos ao Instituto não chegou em condições de se verificar, se havia exemplares infetados".

Em outra publicação (1919 a: 307) entretanto, assinala a infecção natural dos insetos capturados no mesmo local em outra excursão, tendo sido inoculados com êsse material gatos novos e cobaias (1919 b).

Referindo-se ao tipo dos domicílios encontramos às págs. 306-307 daquele trabalho :

"Na segunda viagem que acabámos de realizar a este enorme e rico districto, tivemos opportunidade de visitar todas as habitações, tanto da séde do districto com da aldeia de S. Pedro de Alcantara. Ao todo são 43 casas, sem

contar as dos sitios, chacaras e fazendas distantes. Dessas 43 habitações apenas 3 têm algumas paredes de taboas, as demais são todas de paredes chamadas "francezas", de paus a pique, ripas ou taquára dispostas em sentido transversal e barro. Jatahy e S. Pedro são velhas aldeias em franca decadencia e por isso todas as suas casas estão esburacadas ou em ruinas. Não ha em Jatahy e em S. Pedro uma só casa habitada que não seja fóco de "Barbeiro". Das 43 casas fizemos demolir exactamente 10 e deixámos intimações para demolirem ou reformarem as restantes. Conservámos photographias onde se vêm os auxiliares demolindo varias casas da villa de Jatahy, e todas ellas forneceram consideravel numero de Triatomas, todas da especie megista. Nos buracos do barro das paredes, juntámos enorme quantidade de óvos do referido hematóphago. No Jatahy ha casas que têm tantos chupões que ninguem pode dormir nellas e não é só no Jatahy e em S. Pedro que ha "barbeiro" e em tal numero: nas habitações ribeirinhas do Tibagy, algumas leguas abaixo da séde do districto, o mesmo parasito é encontrado em egual abundancia, e é conhecida a sua grande voracidade. Em Maio passado pudemos observar as triatomas adultas sugando, em pleno dia clarissimo, creanças que dormiam".

Estranhando não estarem os casos graves da doença em relação com a abundância de transmissores, atribue o fato à infestação recente dessa região por insetos oriundos de Mato Grosso, nas embarcações que fazem o trajeto dos rios Jataí até o interior desse Estado, descendo os rios Tibagí e Paranapanema e subindo o Paraná e o Ivinheima até os seus principais afluentes, onde os habitantes do Jataí vão negociar seus produtos agrícolas.

Outra observação interessante do mesmo autor é a ausência de "barbeiros" nos ranchos de índios dessa região (1919 b), confirmando assim idêntica observação de Murilo de Campos (1913). Sôbre isso, escreve (1919 a): "Cremos estar ligado este facto ao typo de habitações dos índios. Elles não moram em casas de barro, mas sim em ranchos de paus a pique, paus estes separados uns dos outros por um espaço de 3, 4 e 5 dedos transversos, não offerecendo, portanto, abrigo seguro aos "barbeiros", nem tão pouco logar propício às suas posturas e germinação dos seus óvos". (pág. 307).

Como localidades suspeitas de infestação, isto é, com referência sôbre a existência de "barbeiro", são mencionadas à pág. 310: Campo do Tenente (Município do Rio Negro) e Colônia Mineira (município de Tomazina). Desta última localidade, hoje sede do município de Siqueira Campos, recebemos agora alguns exemplares de *T. infestans*, ficando assim confirmada aquela referência.

Depois dêsses dados de Lutz e Souza Araujo, sôbre o encontro de *T. sordida* em Iguassú e *P. megistus* em Jataí e São Pedro de Alcântara, em 1918

e 1917 respectivamente, embora publicados todos em 1918, só vamos encontrar nova referência 22 anos depois, pelo Dr. Carlos F. F. da Costa (1940), mencionando o encontro de um exemplar ♂ de *P. megistus*, capturado pelo Dr. Emilio Leão de Matos Sounis, em sua residência, na Avenida Vicente Machado, em plena capital do Paraná, a 22 de fevereiro do mesmo ano, esvoaçando em tôrno de uma lâmpada elétrica. Nesse mesmo trabalho, encontra-se ainda a seguinte citação : "Já em 1936, quando assistente do professor Milton Carneiro, tivemos oportunidade de estudar alguns exemplares apanhados em Araucária pelo Dr. Bruno Cichon, de saudosa memória.

Tambem ouvimos referências de Entomologistas aqui residentes, os quais haviam encontrado alguns exemplares dessa espécie, nas proximidades de Curitiba, no bairro de Cajurú".

Tratando-se de uma referência de especialistas, não há por que duvidar.

Finalmente, os últimos dados que conseguimos foram os de Rosenfeld e Cardoso (1941), assinalando mais uma espécie para êsse Estado: *T. infestans* — sete adultos (dois positivos) e quatro ninfas negativas, procedentes do município de Piraquara.

Os novos dados, de acôrdo com o material remetido à Sc. I., acham-se detalhados nos quadros seguintes :

Nota: Tinhamos concluído o presente trabalho, quando chegaram a Sc. I., enviados pelo Dr. Ary Lobo, dez exemplares de *T. infestans* (6 ♂, 3 ♀ e 1 ninfa), todos mortos e procedentes do município de Jacarezinho, Norte do Paraná, onde, até então, nenhuma referencia havia sôbre transmissores. Com este dado, eleva-se a 13 o número de municipios paranaenses infestados, dos quais 7 são, pela primeira vez, referidos neste trabalho.

QUADRO I

PROCEDÊNCIA	ESPÉCIE	T	FASE	Pos.	Neg.	Morto	REMETENTE	N. (1)	DATA (2)	OBSERVAÇÕES
Carlópolis (cidade)	*T. infestans*	26	m	2	1	—	Dr. Mauricio Arsinais	50	4-II-43	23 ovos ; captura domiciliar
			f	2	—	—				
			n	3	11	—				
			l	—	7	—				
Joaquim Távora	*T. infestans*	23	m	9	—	—	Dr. Alfredo Gabriel	48	30-I-43	19 ovos ; captura domiciliar
			f	4	2					
			n	4	—	—				
			l	1	3	—				
Joaquim Távora	*T. infestans*	4	m	—	1	—	Dr. Lincoln Graça	21	3-XI-42	—
			f	—	1	—				
			n	—	1	1				
Joaquim Távora (Barra Grande)	*T. infestans*	5	m	2	—	—	Dr. Lincoln Graça	33A	10-XII-42	captura domiciliar (casa de madeira)
			f	3	—	—				
Joaquim Távora (Quatigá)	*T. infestans*	1	m	—	—	1	Departamento de Saúde	24	11-XI-43	—
Sto. Antônio da Platina (Pinhal)	*T. infestans*	4	f	—	—	2	Dr. Arnoldo boscardini	24A	11-XI-43	16 ovos
			n	—	1	—				
			l	—	—	1				
Siqueira Campos	*T. infestans*	3	m	—	1	2	Dr. Lincoln Graça	33	10-XII-42	17 ovos ; captura domiciliar (casa de madeira)
Siqueira Campos (Estação Barbosas)	*T. infestans*	6	m	—	—	3	Dr. Eurico Pinheiro Barcelos	70	30-IV-43	captura domiciliar (casas de madeira e de alvenaria)
			f	—	—	1		73	15-V-42	
			n	—	1	1		79	26-VI-43	

(1) N. de contrôle de laboratório.
(2) Data de chegada ao laboratório.
Nota: As inoculações em camondongo foram positivas a partir do 8º dia.

(continua)

QUADRO I (conclusão)

PROCEDENCIA	ESPÉCIE	T	FASE	Pos.	Neg.	Morto	REMETENTE	N. (1)	DATA (2)	OBSERVAÇÕES
Siqueira Campos (Fazenda 3 Barras)	*T. infestans*	16	m	—	—	1	Dr Barraquet Macarron	49	2-II-43	3 ovos ; captura domiciliar
			f	—	1	5				
			n	—	1	4				
			l	—	—	4				
Siqueira Campos (Jacaré)	*T. infestans*	4	m	—	2	1	Dr. Barraquet Macarron	24C	11-XI-42	captura domiciliar
			f	—	—	1				
Siqueira Campos (zona rural do 1º distrito)	*T. infestans*	1	m	—	—	1	Dr. Barraquet Macarron	24B	11-XI-42	captura domiciliar
Siqueira Campos (Salto do Itararé)	*T. infestans*	13	m	1	—	—	Dr. José Sebastião de Oliveira	97	6-IX-43	30 ovos ; captura domiciliar (cafua)
			f	2	—	—				
			n	1	2	2				
			l	—	—	5				
Vencesláu Braz (Sede)	*T. infestans*	8	m	1	3	—	Dr. Eutálio Cordeiro	44	14-I-43	49 ovos ; captura domiciliar
			f	1	3	—				
Tomazina (cidade)	*T. infestans*	10	m	—	—	1	Dr. Djalma Lopes	57	26-II-43	Vários ovos e larvas de 1.º estádio, mortas. Captura domiciliar (cafua)
			f	1	1	2		67		
			n	2	—	—				
			l	1	2	—				
Total		124	—	40	45	39	—	—	—	—

(1) N. de contrôle de laboratório.
(2) Data de chegada ao laboratório.
Nota: As inoculações em camondongo foram positivas a partir do 8º dia.

QUADRO II

MUNICIPIO	ESPÉCIE	RESUMO				ADULTOS							NINFAS			LARVAS		
		T	Ex	+	Indice	T	m			f			T	Ex	+	T	Ex	+
							T	Ex	+	T	Ex	+						
Carlópolis.....	*T. infestans*	26	26	7	26,9%	5	3	3	2	2	2	2	14	14	3	7	7	—
Joaquim Távora....	*T. infestans*	33	31	23	74,2%	23	13	12	11	10	10	7	6	5	4	4	4	1
Santo Antônio da Platina.....	*T. infestans*	4	1	0	—	2	—	—	—	2	—	—	1	1	0	1	—	—
Siqueira Campos....	*T. infestans*	43	12	4	—	22	12	4	1	10	3	2	12	5	1	9	—	—
Venceslau Braz.....	*T. infestans*	8	8	2	—	8	4	4	1	4	4	1		—	—	—	—	—
Tomazina.....	*T. infestans*	10	7	4	—	5	1	—	—	4	2	1	2	2	2	3	3	1
TOTAL.....		124	85	40	47,0%	65	33	23	15	32	21	13	35	27	10	24	14	2

QUADRO III

RESUMO

ESPÉCIE	EX.	MUNICIPIO	LOCALIDADE	ANO	AUTOR
1 — *T. sordida*.....		1 — Foz do Iguassú	Sede	1918	Lutz, Souza Araujo e Fonseca Filho
2 — *P. megistus*.....	+	2 — São Jerônimo	Jataí	1918	Souza Araujo
P. megistus.....	+	3 — Sertanópolis	São Pedro de Alcantara	1918	Souza Araujo
P. megistus.....		4 — Curitiba	Cidade Caiurú	1940	C. F. F. Costa
P. megistus.....		5 — Araucária	Sem referência	1940	C. F. F. Costa
3 — *T. infestans*.....	+	6 — Piraquara.....	Sem referência	1941	Rosenfeld e Cardoso
T. infestans	+	7 — Carlópolis	Sede	1943	Dados atuais
T. infestans.....	+	8 — Joaquim Távora	Barra Grande Ouratigá	1943	Dados atuais
T. infestans.....	—	9 — Santo Antônio da Platina	Pinhal	1943	Dados atuais
T. infestans.....	+	10 — Siqueira Campos	1º. distrito (zona rural) Estação Barbosas Fazenda Três Barras Jacaré Salto do Itararé	1943	Dados atuais
T. infestans.....	+	11 — Venceslau Braz	Sede	1943	Dados atuais
T. infestans.....	+	12 — Tomazina	Sede	1943	Dados atuais

COMENTÁRIOS

Como se poderá ver pelo Quadro III, os transmissores da doença de CHAGAS assinalados até o presente, no Paraná, pertencem apenas a três espécies: *T. infestans, T. sordida* e *P. megistus*. Os exemplares remetidos à Sc. I. pertencem todos à especie *T. infestans*. Êsse fato é certamente devido às capturas terem sido realizadas em domicílios, provando assim ser essa a espécie domiciliar predominante na região sul do país.

E' possível que a pesquisa de transmissores silvestres forneça outras espécies, já que em São Paulo, Estado vizinho, além das acima referidas, foram encontradas as seguintes: *R. domesticus, P. geniculatus, T. rubrofasciata* e *T. tibiamaculata*.

Das três espécies ocorrentes, duas foram encontradas naturalmente infectadas pelo *Schizotrypanum cruzi*: *P. megistus* (por SOUZA ARAUJO) e *T. infestans* (segundo ROSENFELD e CARDOSO).

Como ambas são espécies de hábitos domésticos, êsse fato é de grande significação epidemiológica, já que a doença de CHAGAS é uma doença estritamente domiciliar e, apenas por exceção, adquirida fora de domicílio.

Não encontrámos nenhuma citação bibliográfica sôbre a existência de casos humanos e animais infectados no Estado do Paraná. Entretanto, êles certamente existirão, constituindo o assunto um campo aberto à competência dos clínicos e pesquisadores dêsse Estado. Dos casos de malária crônica, documentadados por SOUZA ARAUJO na fotografia n. 69 de seu trabalho (1919 a), dois, ao nosso ver, são também suspeitos de doença de CHAGAS (forma aguda), suposição essa baseada no nítido edema bipalbebral unilateral presente nos doentes edemaciados, adulto e criança maior, à direita da foto (Est. 1). Tivesse êsse sinal, naquela época, a importância diagnóstica que lhe deu ROMAÑA (1935), certamente tais casos não teriam passado despercebidos. Os referidos doentes eram habitantes de São José da Boa Vista, distrito do município de Vencesláu Braz, donde recebemos em janeiro dêste ano, eviados pelo Dr. EUTÁLIO PAULA CORDEIRO, exemplares de *T. infestans*, alguns dos quais infectados por *S. cruzi*. Êsses insetos, procedentes de captura domiciliar na própria sede do município, demonstram que a infestação dêste não deve ser recente, já que esta infestação parece ser centrípeta, invadindo, primeiro o interior do município, isto é, as casas da zona rural, para depois atingir as da periferia da cidade. Assim, quando encontramos infestação da sede de um município, ela é, de regra, presente nas vilas e habitações rurais do mesmo.

Quanto ao tipo dos domicílios infestados, podemos ver pelo Quadro I que não apenas cafuas (R. 67, 97), mas casas de madeira (R. 33, 33-A, 35, 70, 73) e de alvenaria (R. 79) foram positivas à captura, sendo que, nas primeiras (cafuas), a maioria dos exemplares capturados era representada por formas jovens (ninfas e larvas) do transmissor, enquanto que, nos demais domicílios, os insetos eram, na quase totalidade, adultos, tendo sido encontrada apenas uma ninfa em casa de madeira (R. 70), o que prova não servirem êsses tipos, senão excepcionalmente, como criadouros do transmissor.

Dos 49 municípios em que se divide o Estado, 12 (24, 5 %) apresentam-se infestados pelo transmissor da doença de CHAGAS, dos quais 8 (66, 7%) com transmissores infectados. (Quadro III). Dos seis municípios de onde recebemos material, apenas em um dêles (Santo Antônio da Platina) não pudemos comprovar a infecção dos insetos pelo *S. cruzi*, isto porque, dos quatro exemplares recebidos, sòmente um chegou em condições de ser examinado, e estava negativo. O município que forneceu mais material foi o de Siqueira Campos, com 43 exemplares de *T. infestans*. Em 2.º e 3.º lugares, respectivamente, vêm Joaquim Távora e Carlópolis, o primeiro com 33 e o segundo com 26 exemplares da mesma espécie. Finalmente, seguem-se Tomazina com 10, Vencesláu Braz com oito e Santo Antônio da Platina com quatro, todos *T. infestans*. Em relação ao índice de infecção, Joaquim Távora coloca-se em primeiro lugar, com 23 positivos sôbre 31 examinados (74, 2%), seguindo-se o município de Carlópolis, com sete positivos sôbre 26 examinados (26, 9%). Dos demais municípios, foram examinados poucos exemplares, não oferecendo o resultado base segura para interpretações estatísticas. Num total de 85 exemplares examinados dos 124 capturados nesses seis municípios, 40, ou seja 47 %, mostraram-se infectados por *S. cruzi* (Quadro II).

As localidades de Jataí e São Pedro de Alcântara, referidas por SOUZA ARAUJO como focos de *P. megistus*, pertencem atualmente, segundo os dados que nos foram fornecidos pelo Conselho Nacional de Geografia (e que nos serviram de base para as alterações de âmbito territorial e de categoria de algumas localidades referidas neste trabalho), aos municípios de S. Jerônimo e Sertanópolis, respectivamente.

Sendo muito numerosos os domicílios rurais de madeira no Paraná, pela facilidade dêsse material de construção, e não se prestando os mesmos como as cafuas, para a criação de "barbeiros", é possível admitir-se que êles tenham contribuído para limitar o grau de infestação e, consequentemente, reduzir a incidência da doença de CHAGAS nesse Estado. Também podem ter influído para isso, as disposições profiláticas sôbre a referida doença, contidas nos art. 4.º, 75-81 e no capítulo II do Regulamento Sanitário Rural do Estado

do Paraná (decreto estadual n. 779, de 8-X-918), por fôrça do disposto no art. 1.º do decreto federal n. 13.055, de 6-VI-918, regulamento êsse elaborado por Souza Araujo.

O atual trabalho, referindo o encontro de transmissores domiciliares da doença de Chagas, naturalmente infectados por *S. cruzi*, em vários municípios do Paraná, visa apenas dar uma orientação aos clínicos dêsse Estado, sôbre as zonas de incidência da doença, de vez que "a presença de transmissores infetados em domicílios é indício da existência da infecção nas pessoas ou nos animais (cão, gato e outros) que neles residem" (E. Dias, 1942). Rosenfeld e Cardoso (1941) também acreditam ser a presença de triatomas infectados o melhor elemento de orientação quanto à zona onde deve ser procurada a doença, "extremamente comum em zonas infestadas por espécies domiciliares de "barbeiros" (E. Dias, op. cit.).

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Antenor P. dos Santos, diretor do Departamento de Saúde do Paraná, e aos Drs. Lincoln Graça, Barraquet Macarron, Eurico Pinheiro Barcelos, Djalma Lopes, Alfredo Gabriel, Eutálio Paula Cordeiro, José Sebastião de Oliveira, Arnoldo Boscardini e Maurício Arsinais, os nossos melhores agradecimentos pela valiosa colaboração e intercâmbio científico.

SUMÁRIO

Novos dados são apresentados sôbre a distribuïção geográfica dos transmissores e a incidência da doença de Chagas no Estado do Paraná, após uma revisão bibliográfica do assunto.

Em cinco municípios é assinalada a presença de *Triatoma infestans* naturalmente infectado por *Schizotrypanum cruzi*.

SUMMARY

Notes on the geographic distribution of *Reduviid* vectors and the prevalence of Chagas' disease in State of Paraná, Brazil, are reported.

Five new localities for naturally infected *Triatoma infestans* with *Schizotrypanum cruzi* were found.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Campos, M.

1913. Brasil-Médico, XXVII (12) : 111-117.

Costa, C. F. F.

1940. Revista Médica do Paraná, IX (11-12) : 299-300.

Dias, E.

1942. O Hospital, XXI (6) : 921-926.

Lutz, A., Souza Araujo, H. C. e Fonseca Filho, O.

1918. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, X (11) : 104-173.

Neiva, A. e Lent, H.

1941. Revista Entom., 12 (1-2) : 61-92.

Romaña, C.

1935. M.E.P.R.A. Publ. n. 22, III.

Rosenfeld, C. e Cardoso, F.

1941. Revista Clínica de S. Paulo, IX (5) : 145-147.

Souza Araujo, H. C.

1919-*a* A Prophylaxia Rural no Estado do Paraná (Cap. VI) Vol. I, Ano I: 305-311, Curitiba-Paraná.

Souza Araujo, H. C.

1919-*b* Paraná Médico, IV (1) : 592.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA

Doentes de malária crônica, fotografados por Souza Araujo em São José da Boa Vista, Paraná, em 1917 e publicada a fotografia em 1919. Os dois da direita apresentam nítido edema bipalpebral unilateral, idêntico ao do "sinal de Romaña".

Pinho Simões: Doença de Chagas em Paraná

Nota sôbre a dosagem iodométrica da vitamina C nos frutos cítricos (*)

por

Gilberto G. Villela (Instituto Oswaldo Cruz)
e José Danilo Pecci (*)

(Instituto de Higiene Experimental de Assunção, Paraguái)

(Com um gráfico no texto)

Para a determinação da vitamina C nos frutos cítricos têm sido mais empregadas a dosagem iodométrica e a titulação pelo indicador de óxido-redução 2,6-diclorofenolindofenol.

A determinação pela solução titulada de iodo só pode fornecer resultados satisfatórios quando o ácido ascórbico se encontra puro e em solução aquosa. STEVENS e depois TAUBER e KLEINER, usando um meio muito ácido e livre de substâncias interferentes, conseguiram aplicar o método de titulação com o iôdo ao estudo das frutas cítricas. Entretanto, mesmo com soluções puras de ácido ascórbico, as dosagens fornecem resultados inferiores aos teóricos.

A titulação pelo indicador diclorofenol conforme a técnica de TILLMANS e HIRSCH oferece resultados melhores mòrmente quando se faz a titulação em meio fortemente ácido (pH 2.5) e em tempo curto, como o recomendam HARRIS e RAY (1).

No caso de soluções puras de ácido ascórbico é preferível empregar a titulação pelo iodato de potássio em lugar da solução de iôdo. A determinação deve ser executada em meio ácido, empregando-se a goma de amido como indicador no final da titulação, para que a viragem fique bem perceptível.

BANDARUK acidifica a solução da vitamina com o ácido clorídrico e depois de agitar com clorofórmio procede à titulação pelo iodato na camada clorofórmica. Êste autor obteve assim resultados mais constantes do que com a solução de iôdo adotada pela Farmacopéia Americana (2). Esta técnica não é contudo aplicável à dosagem da vitamina nos sucos de frutas.

O iôdo e o iodato são oxidantes fracos que fazem passar o ácido ascórbico para a sua forma oxidada que é o ácido dehidroascórbico. A reação é reversível:

(*) Estagiário do Ministério da Saúde Pública do Paraguai.

* Recebido para publicação a 3 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

Empregando um oxidante mais enérgico como o permanganato de potássio ou o bicromato de potássio, obtem-se ácido oxálico e ácido treônico, sendo a reação irreversível. A oxidação pelo iodato se faz com libertação de ácido iodídrico como na equação abaixo :

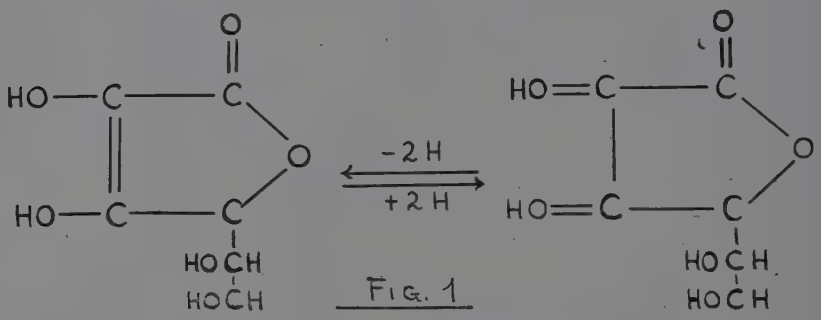


FIG. 1

Fig. 1 — Acido ascórbico (forma reduzida) ácido dehidroascórbico (forma oxidada).

$$5\ KI + KIO_3 + 3\ H_2SO_4 \longrightarrow 3\ I_2 + 3\ K_2SO_4 + 3\ H_2O$$

$$C_6H_8O_6 + I_2 = C_6H_6O_6 + 2\ HI$$

O ácido iodídrico formado na reação pode, segundo HIRST e ZILVA, reduzir em parte o ácido dehidroascórbico, regenerando o ácido ascórbico. Como a concentração de HI depende da quantidade de iodeto de potássio adicionada esta deve ser bem controlada.

A solução de iodato de potássio é muito estável e os resultados das dosagens são mais exatos do que os obtidos com a solução de iôdo. Êstes fatos falam a favor do seu uso nas dosagens de ácido ascórbico em soluções puras. Devemos lembrar que um de nós (*) propusera ser adotada na Farmacopéia Brasileira a titulação pelo iodato para a verificação da pureza do ácido ascórbico (3). Mais recentemente, GOETT, HEDGER E CRAGWALL também pleitearam a substituïção na Farmacopéia Americana da solução de iôdo pela de iodato para a padronização do ácido ascórbico (4).

Tendo ensêjo de dosar numerosas amostras de diferentes frutos cítricos pelos métodos iodométrico e de TILLMANS, fomos levados a empregar com vantagem o iodato de potássio em meio fortemente ácido, de acôrdo com a técnica de BALLENTINE (5).

Os resultados foram muito satisfatórios e permitem a dosagem em série da vitamina C. No quadro I reünimos as determinações feitas em soluções puras de ácido ascórbico pelas titulações com o iôdo, o iodato e o diclorofenol.

(*) G. G. Villela, membro da Comissão de Revisão da Farmacopéia Brasileira.

QUADRO I

ÁCIDO ASCORBICO ADICIONADO EM MG.	ÁCIDO ASCORBICO DOSADO EM MG.		
	Iodo	Iodato	Indofenol
1,00	0,99	1,06	1,02
1,00	0,98	1,00	1,02
1,00	0,97	1,02	1,04
1,00	0,97	1,04	1,05

A titulação pelo iodato em comparação com a do indofenol foi bastante satisfatoria quando aplicada à análise do suco de frutos cítricos como se depreende do quadro II.

QUADRO II

SUCO DE FRUTA	ÁCIDO ASCORBICO ACHADO EM MG. PARA 100 CM^3		
	Indofenol	Iodato	Diferença
Laranja	60,1	60,2	0,1
	52,3	51,3	1,0
	47,5	46,4	1,1
Limão	66,5	66,3	0,2
	58,1	58,0	0,1
	60,1	59,3	0,7
	59,2	59,3	0,1
Lima	37,8	37,9	0,1
	29,0	29,9	0,9
	29,9	29,7	0,2
	32,0	32,2	0,2

A recuperação do ácido ascórbico adicionado ao suco de fruta (laranja, limão) também é muito boa (Quadro III).

QUADRO III

	IODATO 0,01 N GASTO EM CM^3	ÁCIDO ASCORBICO EM MG.	
		Adicionado	Encontrado
5 cm^3 de suco de laranja	3,48	—	3,06
5 cm^3 de suco de laranja + 5 cm^3 da sol. de ac. ascórbico	9,15	4,98	8,05
5 cm^3 da sol. de ascórbico	5,67	—	—
5 cm^3 de suco de laranja	2,62	—	2,30
5 cm^3 de suco de laranja + 5 cm^3 da solução de ác. ascórbico	8,29	4,98	7,27

Em lugar do ácido sulfúrico 2 N como acidificante empregamos também o ácido metafosfórico a 2% (1,5 cm³ para 5 cm³ do suco de limão ou de laranja). As variações não ultrapassaram 3,4 mg para 100 cm³ a favor do ácido metafosfórico. Determinações feitas com o suco de laranja até três horas depois da extinção não mostraram decréscimo apreciável do ácido ascórbico. O tipo de laranjas foi da laranja pêra com o suco ácido de pH 5.8.

Técnica de titulação pelo iodato

Soluções :

1) Solução de iodato de potássio 0,01 N partindo de uma solução padrão 0,1N.
2) Solução de iodeto de potássio a 5 % recentemente preparada.
3) Solução de ácido sulfúrico 2 N.
4) Solução de goma de amido a 1% centrifugada e recente. Pode ser conservada na geladeira durante sete dias. E' preferível adicionar 1 % de ácido sulfosalicílico a 4 %. O amido empregado foi o amido solúvel Merck,

Técnica :

Tomam-se 5 cm³ do suco da fruta límpido ou levemente opalescente. O suco se obtem límpido filtrando-o através papel de filtro apertado S. Sch. N.º 589 ou Whatman N.º 41. Ao suco adicionam-se 1 cm³ da solução de iodeto de potássio e 2 cm³ da solução de ácido sulfúrico. Titula-se imediatamente pela solução de iodato de potássio empregando uma microbureta bem calibrada. No final da titulação junta-se 0,5 cm³ da goma de amido. Convém fazer duas titulações para acertar bem o final da titulação.

O valor obtido é multiplicado por 0,88 e por 20 para se ter o resultado em 100 cm³ do suco. 1 cm³ da solução de iodato de potássio O,01 N equivale a 0,88 mg. de ácido ascórbico.

No quadro IV reünimos alguns dados referentes às dosagens empreendidas pela técnica com o iodato em alguns frutos cítricos.

QUADRO IV

FRUTA	NUMERO	ÁCIDO ASCORBICO EM MG PARA 100 CM³ VARIAÇOES MÉDIAS
Limão galego.....	20	45,4 a 67,3
Lima.....	15	25,2 a 38,2
Laranja pera.....	22	28,0 a 60,8
Tangerina.....	6	32,0 a 59,3

A ação da ascorbinase sôbre o suco da laranja e da lima mostra que pràticamente tôda substância dosada pelo iodato é o ácido ascórbico. Para a lima obtivemos em alguns casos uma diferença de 8 mg para 100 cm^3 expressos em ácido ascórbico.

CONCLUSÕES

O ácido ascórbico do suco dos frutos cítricos pode ser dosado com suficiente exatidão pela técnica de titulação com o iodato de potássio como o recomenda BALLENTINE. A facilidade da técnica permite dosagens em série sem padronizar a solução de iodato que é muito estável ao passo que o indicador de TILLMANS necessita verificação diária.

SUMMARY

Iodometric Determination of Vitamin C in Citrus Fruit Juices

Ascorbic acid was determined in pure aquous solutions and in citrus fruit juices by iodometric, dichlorophenolindophenol and iodate methods. More constant values were obtained with iodate and Tillmans methods. Iodate is preferable owing to the stability of solution and the simplicity of the method. In the analysis of citrus juices the iodate method proposed by Ballentine is very accurate and suitable for routine work (Table I and II). Recovery experiments recorded in Table III show that the results are reproducible.

The averages obtained for some fruits are shown in Table IV. Lemon : 45,4 to 67,3; orange : 28,0 to 60,8; lima : 25,2 to 38,2 and mandarine : 32,0 to 59,3. Values expressed in mg per 100 cc. of juice.

BIBLIOGRAFIA

1. HARRIS (L. J.) e RAY (S.)
   1933. Bioch. Jour 27, 590.
2. BANDARUK (W.)
   1941. Am. Jour. Pharm. 113, 18, apud Jour. Am. Pharm. Ass. 32, 25, 1943
3. Primeiro suplemento de Farmacopéia Brasileira.
   1943. Gazeta Farm.
4. GOETT (E. J.), HEDGER (F. H.) e CRAGWALL (G. O.)
   1943. Jour. Am. Pharm. Assoc. 32, 7.
5. BALLENTINE (R.)
   1941. Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.) 13, 89.

Nota sôbre os transmissores da moléstia de Chagas ocorrentes no Estado do Maranhão, Brasil (*)

pelo

Dr. Cassio Miranda

Durante nossa permanência em Maranhão, como chefe do Serviço de Saneamento Rural, tivemos ocasião de, há vários anos, realizar algumas observações sôbre a presença de triatomídeos no referido Estado, sem chegar contudo, a dar-lhes publicidade.

O crescente e justificado interêsse que desde certa época se vem notando pelo assunto, e a escassez dos dados de que dispomos sôbre a ocorrência de "barbeiros" nesse Estado nortista, motivaram a publicação da presente nota, na qual assinalamos a existência de dois vectores da moléstia de CHAGAS cuja presença alí ainda não estava registada.

No tratado de CESAR PINTO, "Arthropodes parasitos e transmissores de doenças" aparecido em 1930, nenhuma referência há quanto à existencia de barbeiros no Maranhão. No importante trabalho "Sinopse dos Triatomídeos", de A. NEIVA e H. LENT (1941), a única espécie referida é o *Panstrongylus geniculatus* (LATREILLE, 1811) PINTO, 1931.

Revendo com o DR. EMMANUEL DIAS o material que há anos colecionámos naquele Estado, deparámos com exemplares de triatomídeos pertencentes às espécies *Panstrongylus megistus* (BURMEISTER, 1835) PINTO, 1931, e *Triatoma rubrofasciata* (DE GEER, 1773) KIRKALDY, 1907.

O *Panstrongylus megistus* é abundante no Município de Mirador, de onde possuímos diversos exemplares adultos, capturados em outubro e novembro de 1925. Como se sabe, trata-se de um dos mais importantes e mais difundidos transmissores da moléstia de Chagas no Brasil, tendo sido justamente nele que CARLOS CHAGAS descobriu o protozoário que depois demonstrou ser o agente etiológico de uma nova tripanosomose humana: o *Schizotrypanum cruzi*.

Infelizmente não possuímos dados sobre a infecção natural desta espécie pelo *S. cruzi* no Maranhão, certamente possível e mesmo muito provável.

Quanto ao *Triatoma rubrofasciata*, também possuímos vários especimes adultos, procedentes de Caxias, onde foram capturados em 1923, em residências na parte central da cidade.

* Recebido para publicação a 9 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

E' um triatoma cosmopolita, segundo NEIVA originário da Asia e difundido por quase todo mundo por via marítima, sendo ainda hoje predominante nas regiões litorâneas.

Esta espécie transmite um hemoflagelado, o *Trypanosoma conorrhini* (Donovan, 1909), descoberto na Índia no intestino do inséto transmissor e sòmente muitos anos depois no hospedeiro definitivo, um rato (*Rattus rattus diardi*), em Java (Bonne, 1937). Muito recentemente êste parasito foi identificado no *Triatoma rubrofasciata* da cidade do Rio de Janeiro por EMMANUEL DIAS e C. A. CAMPOS SEABRA (1943), que assinalaram êste flagelado pela primeira vez, no hemisfério ocidental. Em Pernambuco (LUCENA, 1940) e na Guiana Francesa (FLOCH & LAJUDIE, 1942) o *T. rubrofasciata* havia sido encontrado com flagelados no intestino, mas êstes foram considerados pelos referidos autores como formas evolutivas do *Schizotrypanum cruzi;* entretanto, segundo E. DIAS & SEABRA (1943), provàvelmente se tratava do *Tripanosoma conorrhini,* conforme de fato o fazem supor os argumentos dêstes últimos autores.

Não obstante, o *Triatoma rubrofasciata* pode transmitir experimentalmente o *Schizotrypanum cruzi* (segundo NEIVA 1914), e mesmo em condições naturais, como o demonstraram E. DIAS & O. NEVES (1943), que identificaram o parasito em barbeiros de Pernambuco, (Nazaré).

Lamentamos não estar em condições de dar informação sôbre a ocorrência do parasitismo natural de *T. rubrofasciata* no Maranhão.

Os exemplares de triatomídeos que trouxemos dêste Estado foram oferecidos à Divisão do Estudo de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, que o Prof. A. MARQUES DA CUNHA sàbiamente dirige. Esta Divisão está empreendendo patriótica campanha no sentido de desenvolver o estudo da moléstia de Chagas em todo o Brasil, campanha essa que merece todo apôio por parte das autoridades sanitárias como dos próprios clínicos rurais. No "Apelo aos clínicos do interior para a colaboração no estudo da doença de Chagas", do DR. EMMANUEL DIAS, encontram-se sugestões sôbre o modo pelo qual se pode entrar em contacto com essa Divisão do Instituto Oswaldo Cruz, com ela estabelecendo uma profícua e patriótica colaboração no estudo desta moléstia cuja descoberta é uma das mais legítimas glórias da ciência nacional.

SUMÁRIO

Assinala-se, no Estado do Maranhão, Brasil, a existência de mais duas espécies transmissoras da moléstia de Chagas, o *Panstrongylus megistus* (BURMEISTER, 1835) PINTO 1931, e o *Triatoma rubrofasciata* (DE GEER,

1773) KIRKALDY, 1907, além do *Panstrongylus geniculatus* (LATREILLE, 1811) PINTO, 1931, cuja presença nesse Estado já era conhecida.

SUMMARY

We draw the attention to the existence of two transmitter species of Chagá's desease in the State of Maranhão, Brazil, the *Panstrongylus megistus* (BURMEISTER, 1835) PINTO, 1931 and the *Triatoma rubrofasciata* (DE GEER, 1773) KIRKALDY, 1907 besides the *Panstrongylus geniculatus* (LATREILLE, 1811) PINTO, 1931, whose presence was already known in that State.

REFERÊNCIAS

BONNE, C.

1937. The natural host of *Trypanosoma* (*Crithidia*) *Conorrhini* Donovan. Am. Jour. Trop. Med. 17 (3) : 393-399.

DIAS, E.

1942. Apêlo aos clínicos do interior para a colaboração no estudo da doença de Chagas. O Hospital (Rio de Jaieiro) 21 (6) : 921-926.

DIAS, E. & CAMPOS SEABRA, C. A.

1943. Sobre o *Trypanosoma conorrhini*, parasito do rato transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata*. Presença do vector infectado, no Rio de Janeiro, D. F. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 39, F. 3 pág. 301.

DIAS, E., & NEVES, O.

1943. Determinação da infecção natural por *Schizotrypanum* em *Triatoma rubrofasciata* no Estado de Pernambuco. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 39, F. 3 pág. 331.

FLOCH. H. & LAJUDIE, P. DE

1942. *Cabassus lugubris* et *Didelphis cancrivora* naturellement infectés par *S. Cruzi* em Guyane Française. *Triatoma rubrofasciata* vecteur naturel. Inst. Pasteur Guyane Terr. Inini 45 : 1-4.

LUCENA, D.

1940. Infecção natural do *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) pelo *Tripanosona cruzi* Chagas 1909. O Hospital (Rio de Janeiro) 18 (1) : 91-93.

NEIVA, A.

1914. Contribuïção para o estudo dos redúvidas hematófagos, I. Notas sobre os redúvidas hematófagos da Bahia com a descrição de uma nova espécie. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 6 (1) : 35-39.

Neiva, A. & Lent, H.

1941. Sinopse dos triatomídeos.
Rev. Ent., Rio de Janeiro, 12 (1-2) : 61-92.

Pinto, C.

1930. Arthrópodes parasitos e transmissores de doenças.
Tomo I, 395 pp. Rio de Janeiro.

Agradecemos aos Drs. Emmanuel Dias e Carlos Alberto Campos Seabra, as informações que nos anteciparam sobre suas observações a respeito dos flagelados do *Triatoma rubrofasciata*.

Sôbre o Trypanosoma conorrhini, hemoparasito do rato transmitido pelo Triatoma rubrofasciata. Presença do vector infectado na cidade do Rio de Janeiro (*)

por

Emmanuel Dias e C. A. Campos Seabra

(Com quatro figuras no texto e duas estampas)

INDICE

	Págs.
Histórico	303
Distribuição geográfica do *Triatoma rubrofasciata*	305
Parasitismo do *T. rubrofasciata* por flagelados na América	306
Verificação da presença do *Trypanosoma conorrhini* no Rio de Janeiro	307
Morfologia do flagelado no inseto	307
Semelhança do *T. conorrhini* e do *Schizotrypanum cruzi* no hospedeiro intermediario	310
Comparação entre as formas metacíclicas de *T. conorrhini* e de *S. cruzi* no transmissor	311
Evolução do *T. conorrhini* em outras especiais de barbeiro	314
Experimentação em animais	314
Morfologia do tripanosoma no sangue	318
Possibilidade do *T. conorrhini* ter sido préviamente encontrado na América do Sul	321
Os triatomas como possiveis transmissores de parasitos do gênero *Trypanosoma*	322
Resumo e conclusões	324
English summary	325
Bibliografia	326

Histórico

A existência de flagelados no conteúdo intestinal do *Triatoma rubrofasciata* foi primeiro assinalada por DONOVAN (1909), no decurso de investigações sôbre o problema da transmissão da leishmaniose visceral, em Madras, na Índia. Na suposição de que o flagelado fôsse um parasito próprio do inseto, deu-lhe o nome *Crithidia conorrhini*.

* Recebido para publicação a 11 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

Pouco depois, LAFONT (1912 a, b) repete o achado em triatomas das ilhas Mauritius e Reunion, no Oceano Índico. Conseguiu, porém, inoculação positiva em camondongo, e considerou o protozoário como pertencente a uma nova espécie, á qual denominou *Trypanosoma boylei.*

Muito mais tarde SHORTT & SWANINATH (1928), no Assam (India), observaram a presença de flagelados no mesmo hematófago, obtendo também a transmissão ao camondongo por inoculação. Ao mesmo tempo KNOWLES (1928) refere o parasitismo do *Triatoma rubrofasciata* em Calcutá por uma "crithidia of its own".

Um estudo muito aprofundado do protozoário foi feito por MORISHITA (1935) na Ilha da Formosa, onde sua presença foi verificada em 238 de 385 triatomas examinados (61.8%). Fàcilmente comprovada a transmissibilidade ao camondongo em diversas circunstâncias, foi então considerado como provável parasito digenético — *Tripanosoma conorrhini* (DONOVAN) possìvelmente idêntico ao *Trypanosoma boylei* LAFONT. O hospedeiro vertebrado, entretanto, continuou ignorado. Talvez concorresse fundamentalmente para isso a maneira errônea do autor japonês encarar os fatos, que o teria desviado da procura adequada e pertinaz daquele hospedeiro, que tudo indicava existir: "The natural vertebrate host of *T. conorrhini,* which still remains to be found out, must be rather an animal with little chance of being attacked by the insect. But since the latter shows a high percentage of infection in nature, it is inferred that dissemination takes place from insect to insect by direct transmission"... (MORISHITA 1935, pág. 541).

A questão foi sèriamente investigada em Java depois que MALAMOS (1935) identificou o *Schizotrypanum cruzi* em macacos (*Macacus cynomolgus*) do Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo, procedentes daquela ilha. Como o *Triatoma rubrofasciata* é alí muito frequente, atraiu desde logo a atenção dos pesquisadores como o possível transmissor local do *S. cruzi,* mas o único flagelado nele encontrado em Java foi o *Trypanosoma conorrhini,* conforme o verificou BONNE (1935, 1936). E, interessante, a despeito de reiteradas pesquisas, mesmo com o recurso do xenodiagnóstico em macacos e em crianças, não só não tornou a ser encontrado o *S. cruzi,* como continuou desconhecido o provável hospedeiro definitivo do *T. conorrhini.*

Convencido porém de que o flagelado devia ter um ciclo no vertebrado, BONNE (1937) teve a boa idéia de mandar fazer a determinação da origem do sangue semi-digerido contido no estômago dos triatomas, pelo teste das precipitinas, afim de melhor orientar as suas investigações. O resultado foi o mais significativo possível, pois as reações foram sempre positivas em

presença dos soros anti-rato, negativas em presença dos soros anti-homem, cavalo, búfalo, carneiro, cabra, vaca, porco, cão e galinha (MEYER, 1936). O fato de ser o rato o animal mais procurado pelo triatoma explica-se perfeitamente pela preferência, que êsse roedor tem, de construir o seu ninho no interior das duplas paredes de bambú das habitações dos nativos javaneses, local onde também se acoitam os hematófagos, donde a estreita convivência entre ambos.

Assim foi que, aplicando em ratos de casas com hemípteros parasitados o xenodiagnóstico com *T. rubrofasciata* "limpos", BONNE (1937) chegou finalmente à determinação do hospedeiro natural do *T. conorrhini* em Java, o *Rattus rattus diardi*. De 20 ratos sugados diversas vêzes por lotes de triatomas, três se mostraram infectados pelo hemoflagelado.

BONNE & MOOY (1937) também relatam estas pesquisas, expressando o ponto de vista de pertencer a uma única espécie o flagelado até aquela época observado no conteúdo intestinal do *Triatoma rubrofasciata* em diferentes regiões do globo:

"Wir glauben, dass unser Parasit mit den von DONOVAN, SHORTT und SWANINATH, LAFONT und MORISHITA beschriebenen Trypanosomen identisch ist und werden im weiteren auch den Namen *Trypanosoma conorrhini* gebrauchten".

Ao encerrar êste resumo histórico, cabe recordar que o *Trypanosoma conorrhini*, do mesmo modo que o *Schizotrypanum cruzi*, foi primeiramente encontrado, no mesmo ano de 1909, no organismo do inseto transmissor, um hemíptero hematófago. Entretanto, quase 30 anos transcorreram até que se conseguisse descobrir um hospedeiro vertebrado do *T. conorrhini*, muito embora a sua provável existência pudesse desde logo ser admitida pelos resultados da experimentação em animais. Valha o ensêjo para, evocando as breves etapas da descoberta da tripanosomose americana, tão rica em ensinamentos, rendermos mais uma homenagem à memória de CARLOS CHAGAS, o genial criador do magnífico capítulo de uma nova entidade mórbida do homem.

Distribuição geográfica do TRIATOMA RUBROFASCIATA

Esta é sem dúvida a espécie de *Triatoma* mais difundida no mundo. O mapa da fig. 1 dá uma idéia de sua ampla distribuição, cuja grande parte se encontra na faixa compreendida entre os trópicos de Cancer e de Capricórnio. Segundo NEIVA é originária da Asia, de onde se difundiu pelo tráfego marítimo, predominando ainda hoje na orla dos continentes e nas ilhas.

O *T. rubrofasciata* encontra-se espalhado sobretudo na Asia e na Oceania (Arábia, Índia, Birmânia, Estados Malaios, Indochina, Tailândia, Península de Malacca, China e ilhas: Filipinas, Formosa, Andaman, Ceilão, Java, Sumatra, Bornéu, Nova Guiné, Tonga, Carolinas, Havaí, etc.). Na África tem sido assinalado em diversas regiões (África Equatorial Francesa, Serra Leoa, Angola, Congo, África do Sul); nas ilhas do Oceano Índico, como Mauritius, Reunion, Madagáscar, Comores, Seychelles, Rodrigues, Zanzibar. Nos Açores, no Oceano Atlântico, acha-se o limite norte de sua distribuïção geografica. Na América do Norte parece só ter sido assinalado em Jacksonville, na Flórida, e na América Central na República do Salvador. Está presente em muitas das Antilhas, como Cuba, Haití, Jamaica, São Tomaz, Antígua e Virgens.

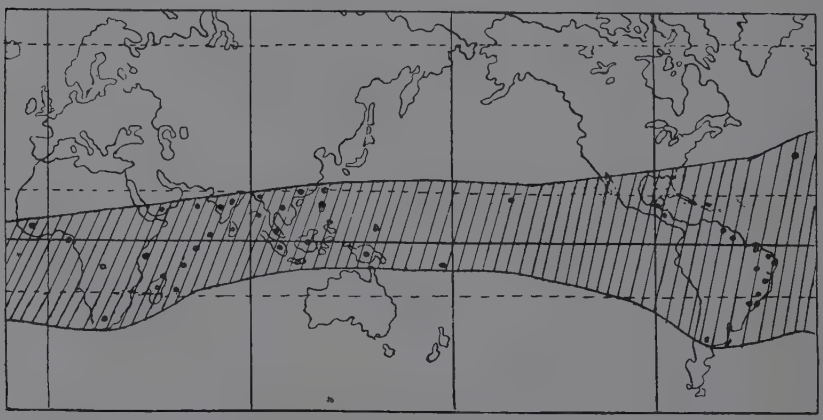


Fig. 1 — Distribuïção geográfica do Triatoma rubrofasciata (De Geer). Segundo modificação do mapa de Hase, 1932, fig. 16, pág. 603.

No que diz respeito à América do Sul, o *T. rubrofasciata* é conhecido na Venezuela, Guiana Francesa, Guiana Holandesa, Brasil e Argentina. Curioso é que não tenha sido ainda encontrado nos países do Pacífico.

No Brasil, Neiva & Lent (1941) dão-no como presente nos Estados de Pará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Baía, Minas Gerais, Distrito Federal e São Paulo. Recentemente foi assinalado no Maranhão (Miranda, 1943). A Divisão de Estudos de Endemias, do Instituto Oswaldo Cruz, já recebeu exemplares de Pará, Maranhão, Alagoas e Distrito Federal.

Na cidade do Rio de Janeiro (D. F.) a presença do *T. rubrofasciata* é há muito conhecida. Na literatura achamos referência à captura de exempla-

res em ruas centrais da cidade, como São José, Espírito Santo (hoje Pedro I), Andradas, São Pedro, nos bairros de Botafogo (Rua Marquês de Olinda), Santa Teresa, Tijuca (Haddock Lôbo) e nos subúrbios de São Francisco Xavier, Rocha e Riachuelo. Frei THOMAZ BORGMEYER comunicou verbalmente aos autores haver achado um barbeiro desta espécie no Convento de Santo Antônio, no morro do mesmo nome.

A Divisão de Estudos de Endemias possue exemplares de Santa Teresa (um macho), do Quartel da Polícia Especial, no Morro de Santo Antônio (um macho e uma fêmea) e no Largo da Carioca (um macho). Êste último foi o em que verificamos a presença de flagelados, que adiante estudaremos.

Parasitismo de TRIATOMA RUBROFASCIATA *por flagelado na América*

Ao tratarmos da parte histórica, aludimos à presença do *Trypanosoma conorrhini* no intestino de *Triatoma rubrofasciata* em várias regiões da Ásia e nas ilhas do Oceano Índico e do Oceano Pacífico, onde o protozoário foi descoberto e bem estudado.

Na literatura que conhecemos sôbre o assunto, não encontrámos referência à ocorrência dêste flagelado a não ser naquelas longínquas regiões.

No continente americano o *Triatoma rubrofasciata* foi encontrado com parasitismo intestinal por flagelados sòmente em duas localidades, a nosso conhecimento: em Recife, no Estado de Pernambuco, e em Caiena, capital da Guiana Francesa. O flagelado, entretanto, foi identificado como *Schizotrypanum cruzi*, não tendo sido devidamente excluída a possibilidade de ser o *Trypanosoma conorrhini*, conforme teremos ocasião de discutir mais adiante.

Destarte, a presença do *T. conorrhini* aparentemente nunca foi demonstrada nesta parte do mundo. Com o presente trabalho, sua distribuïção geográfica conhecida torna-se consideràvelmente expandida, ganhando o hemisfério ocidental e tornando-se o cosmopolita tripanosoma, tal como há muito se sabe ser o seu agente transmissor, o *T. rubrofasciata*, e o seu hospedeiro definitivo, o rato.

Verificação da presença do TRYPANOSOMA CONORRHINI *no Rio de Janeiro*

Em junho do corrente ano foi dado a um de nós (CAMPOS SEABRA) capturar, num restaurante de luxo no centro da cidade (largo da Carioca), um barbeiro adulto que pousou na cabeça de uma pessoa. Era noite e, sendo o local bem iluminado, provàvelmente o inseto viera de fora, atraído pela luz, fato que tem sido comumente observado com barbeiros.

Tratava-se de um *Triatoma rubrofasciata*, que foi levado ainda vivo para a Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, onde se constatou a presença de flagelados no conteúdo do reto, extraído por punção anal. À primeira vista, ao simples exame a fresco, supôs-se que eram formas evolutivas de um *Schizotrypanum*, o que não era de estranhar em face do recente encontro de *Panstrongylus megistus* infectados por parasitos dêste gênero em pleno Distrito Federal (Dias, 1943).

Entretanto, o exame de preparação corada pelo Giemsa levantou a suposição de serem os flagelados formas de evolução de um outro protozoário, o que se confirmou pelo resultado da inoculação em animal. De fato, um camondongo injetado apresentou dias depois um grande tripanosoma no sangue, o qual foi demoradamente observado a fresco e que não tornou a ser visto no mesmo material após coloração, nem em novas preparações de sangue feitas no mesmo e em outros dias.

Pesquisas que serão relatadas a seguir demonstraram cabalmente tratar-se do *Trypanosoma conorrhini* (Donovan, 1909), até então nunca identificado na América, quer no inseto transmissor, quer no hospedeiro definitivo.

Morfologia do flagelado no inseto

Os parasitos observados no primeiro e único *T. rubrofasciata* que encontramos infectado no Distrito Federal não eram muito numerosos. Grande parte do material foi inoculada em camondongo, tendo sido feito apenas um preparado que foi fixado pelo álcool etílico absoluto e corado pelo Giemsa.

As formas parasitárias presentes eram critídias e tripanosomas metacíclicos. As primeiras não chamavam a atenção por nenhuma particularidade, mas as segundas, evidentemente, não tinham aspecto conhecido das formas correspondentes do *Schizotrypanum cruzi*.

No primeiro material disponível não pudemos observar senão um número pequeno de formas bem coradas. Posteriormente, tornou-se possível o exame de barbeiros que se infectaram intensamente no laboratório por sucção dos animais inoculados. Em triatomídeos de várias espécies, assim infectados e dissecados a prazos variáveis, surpreendemos as diversas fases da evolução do flagelado, cujos aspectos fundamentais serão ràpidamente descritos.

As formas de critídia, como de regra, são polimórficas e de dimensões bastante variáveis. Seu núcleo é ovóide, bem corado, e está colocado em posição inconstante no corpo do protozoário, mais ou menos nas proximidades da parte média. O blefaroplasto tem a forma de bastonete, é intensamente corado e na generalidade dos casos acha-se situado bem perto do núcleo e à

sua frente; dêle parte o flagelo aderente que depois de bordejar a membrana ondulante pouco nítida, prolonga-se por uma porção livre relativamente curta. A extremidade posterior do corpo é moderadamente afilada e também curta. O protoplasma geralmente não encerra granulações. As critídias são por excelência a forma de multiplicação, sendo freqüentes as formas em divisão binária. Observadas em estado fresco, algumas formas apresentam um movimento contínuo característico, locomovendo-se em linha reta como que puxadas por uma linha, flagelo para a frente.

Nas critídias pequenas o blefaroplasto ocupa posições variadas relativamente ao núcleo. Arredondando-se e saindo de sua posição anterior, desloca-se para o lado do núcleo e passa gradativamente para a extremidade posterior do corpo, estando então terminada a transformação em tripanosoma metacíclico: "*On constate tous les degrés de la retrogradation du blépharoplaste* qui devient posterieur au noyau" (LAFONT 1912 *b*, pág. 912). Esta transformação simples é um fenômeno geral entre os flagelados e não comporta, a nosso ver, interpretações hipotéticas às vêzes invocadas para explicar a formação do estádio final da evolução de outros tripanosomídeos (ELKELES, 1940, 1942).

A forma metacíclica do *T. conorrhini* possue um aspecto bastante peculiar. Chama a atenção, em primeiro lugar, pela exigüidade de suas dimensões. Em segundo lugar, é notável a posição em que se acha o núcleo, muito para trás, às vêzes em contigüidade com o blefaroplasto. Êste é arredondado, volumoso, terminal ou subterminal. O flagelo aderente é mais ou menos sinuoso e sua parte livre é bastante curta. O corpo do parasito freqüentemente é curto e largo, atarracado, de contornos às vêzes irregulares, piriforme. Outras vêzes, é alongado e incurvado em forma de C, casos em que o núcleo fica do lado da concavidade. A fresco, as formas metacíclicas são dotadas de ativos movimentos vermiculares *sur place* ou se deslocam velozmente no campo microscópico, conforme a boa descrição de LAFONT (1912, pág. 895):

"On rencontre aussi, tantot très rares, tantôt très nombreuses, de petites formes se tordillant sur place comme des vers, avec des mouvements d'extension et de rétraction. Ce sont des *trypanosomes* de petites dimensions. Ces petits trypanosomes évoluent sur place, comme s'ils étaient gênés par le contenu intestinal ou comme s'ils sortaient d'un kyste; leurs mouvements sont vifs, rapides. Ils semblent aussi se détendre comme des ressorts pour traverser très vite le champ du microscope".

Três são as características que, segundo LAFONT (1912 *b*), são suficientes para distinguir estas formas do *T. conorrhini* das de outros tripanosomideos: 1) blefarosplasto muito volumoso, arredondado ou muito ligeira-

mente alongado, terminal ou sub-terminal com relação à extremidade posterior; 2) núcleo volumoso, alongado, fortemente corado, na maioria das vêzes acolado longitudinalmente à face côncava do parasito; 3) uma distância muito curta, que pode mesmo ser inapreciável, separando o blefaroplasto da extremidade posterior do núcleo. "La constance de ces trois caractères souffit, selon nous, à différencier ce petit trypanosome des espèces connues" (LAFONT 1912 *b*, pág. 900).

MORISHITA descreve dois tipos principais de metacíclicos, as formas alongadas e falciformes medindo de corpo 9 a 13 μ, e as formas curtas e largas, com apenas 4 a 8 μ de corpo. "The nucleus is generally elongated oval, but often kidney-shaped, quite a peculiarity of this short and rounded form. In slender examples it is posterior to the body centre, but in broad ones it is subcentral and is often attached to the concave side of body. The parabasal body is conspicuous and lies at or near the posterior extremity of the body. The axoneme, arising from near the parabasal body, runs along the convex side of the body and projects beyond it as a free flagellum, as a rule only 15 long. In broad examples, it often runs along almost the entire periphery of the body. Roughly speaking, short broad examples are more numerous than slender ones. Division has been observed, though not frequently. This form is easily recognisable by its very active and peculiar movement" (MORISHITA 1935, pág. 471).

A proposito da divisão das formas de tripanosoma, deixamos assinalado que ainda não nos foi dado observar indivíduos em via de divisão.

Estas descrições dão uma idéia da semelhança das formas parasitárias do *Triatoma rubrofasciata* do Rio de Janeiro com as do mesmo hemíptero das ilhas Mauritius, Reunião e Formosa. Melhor do que elas, porém, os desenhos e microfotografias do presente trabalho mostram a morfologia do flagelado em diferentes fases de sua evolução no inseto e no animal, figurando a documentação original ao lado da reproduzida de outros autores para maior facilidade de comparação (ver explicação das estampas).

Ainda a respeito do parasitismo do inseto, diremos que, segundo a larga experiência de MORISHITA, êle se desenvolve todo na luz do tubo digestivo, principalmente no intestino médio e no intestino posterior, excepcionalmente nos tubos de Malpighi. O aparecimento de parasitos nas fezes pode dar-se apenas 13 dias após a refeição infectante, em muitos casos, 20 ou mais dias. Quanto à persistência do parasitismo, observou-a até 520 dias sem haver nenhuma influência nas metamorfoses do inseto; a alimentação dêste em animais de diferentes espécies e imunes, inclusive aves, não exerce influência nefasta sôbre a infecção do transmissor, uma vez estabelecida.

Ao contrário do que asseverou LAFONT (1912 *b*) a respeito da existência de "quistos" no inseto, diremos com MORISHITA "No cysts nor any resistent forms have been found in *T. conorrhini*"... (1935, pág. 541).

Ainda não encontramos evidência, entretanto, para justificar a sua opinião de que "the life cycle of this flagellate in the insect body proceeds in two different lines: one leading to the leishmania form (leishmania cycle) and the other to the metacyclic trypanosome form (trypanosome cycle)" (MORISHITA 1935, pág. 539).

Semelhança do TRYPANOSOMA CONORRHINI *e do* SCHIZOTRYPANUM CRUZI *no hospedeiro intermediário*

Tratando-se de formas flageladas verificadas no intestino de hemípteros sugadores de sangue ocorrentes em regiões diametralmente opostas do globo, era natural que a semelhança entre elas fôsse inferida pela leitura de trabalhos realizados sem o confronto objetivo de ambas as espécies parasitárias.

Assim é que, logo ao descrever o seu *Trypanosoma boylei*, LAFONT (1912 *b*, pág. 914-915) refere expressivamente: "De même, beaucoup de nos formes: formes *Crithidia*, formes rondes et ovalaires, rapèllent les formes correspondantes de *Conorrhinus megistus* infectés de *Schizotrypanum cruzi*, à tel point qu'on les croirait parfois calqués les unes sur les autres". De passagem, faremos ressaltar que o autor não mencionou aquí as formas metacíclicas, que, como veremos, são as que mais distinguem um e outro parasito.

Aludindo aos trabalhos de LAFONT, LAVIER (1921) conjectura: "Aussi peut-on de demander s'il ne s'agirait pas de *Trypanosoma cruzi* avec lequel d'ailleurs il (*Trypanosoma boylei*) presente une grande ressemblance morphologique" (pág. 84).

WENYON (1926) também considera "closely related" ao *Schizotrypanum cruzi* o parasito estudado por LAFONT, cujas formas evolutivas "resemble very closely the stages of *T. cruzi* in its invertebrate host." Do mesmo modo SHORTT & SWANINATH (1928): The great resemblance shown by this parasite of *Triatoma rubrofasciata* to the forms of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma megista*"...

MORISHITA (1935) refere-se a "many points of resemblance" entre êstes flagelados no intestino do inseto, voltando a insistir sôbre isto em 1938, no Brasil: "Very interesting to note that morphologically this flagellate bears a close resemblance to the insectan forms of *Schizotrypanum cruzi*".

Diante destas citações, não é muito de admirar que as duas primeiras vêzes que flagelados foram encontrados no *Triatoma rubrofasciata* na Amé-

rica do Sul, não tenha sido feita uma identificação segura do protoziário, que foi tomado com o *Schizotrypanum cruzi*, conforme veremos mais adiante.

Comparação entre as formas metacíclicas de TRYPANOSOMA CONORRHINI *e de* SCHIZOTRYPANUM CRUZI *no transmissor*

Desde que os territórios de distribuïção geográfica dêstes agentes parasitários, antigamente antípodas, pareceram confundir-se com a verificação do *Schizotrypanum cruzi* em macacos de Java e que agora definitivamente se confundem pelo encontro do *Trypanosoma conorrhini* na América do Sul, impõe-se a necessidade de procurarmos distinguir e caracterizar as respectivas formas evolutivas no barbeiro transmissor, já que no animal infectado os tripanosomas sanguícolas de cada um são de todo inconfundíveis.

As formas de critídia parecem-nos indistinguíveis e dificilmente poderão fornecer qualquer elemento de diferenciação, dada a sua extrema semelhança e variabilidade.

Quanto ao tripanosoma metacíclico, vimos que o do *T. conorrhini* tem um aspecto bastante peculiar, que o dintingue com certa segurança e facilidade do *Schizotrypanum cruzi*. A forma metacíclica do *T. conorrhini* é bem menor que a do *S. cruzi* e tem o núcleo situado bem para trás, muito perto e às vezes junto do blefaroplasto. Além disto é muito característico o aspecto morfológico das formas atarracadas tão freqüentes nos barbeiros portadores do *T. conorrhini*. Claro está que ao exame individual de certas formas isoladas a distinção estará sujeita a dúvida, mas a observação de muitos elementos poderá facultar a identificação. O simples exame a fresco fornece dados de importância, relativos não só à forma e tamanho dos metacíclicos, como à mobilidade particular de certas formas *T. conorrhini*.

Mensurações — As medidas que obtivemos de 100 tripanosomas metacíclicos de *T. conorrhini* (de *Triatoma infestans* infectado por alimentação em animal inoculado) e de igual número de formas de *Schizotrypanum* (sendo 50 de *Triatoma rubrofasciata* de Nazaré, Pernambuco, e 50 de *P. megistus* do Distrito Federal) bem demonstram as diferenças de comprimento total entre os flagelados dos dois gêneros. Foi a seguinte a distribuïção de frequência apurada:

	Comprimento total em μ															Total
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	medido
T. conorrhini.	2	9	24	15	25	17	5	3	—	—	—	—	—	—	—	100
Schizotrypanum. . . .	—	—	—	—	—	1	1	8	28	15	18	22	5	1	1	100

Aplicado a estas distribuïções o teste do χ^2, obtivemos $\chi^2 = 184{,}15$ $n' = 15$, donde $P = 0.000000$ (cf. Dias & Freitas 1943).

Pelos dados supra, a média do comprimento total foi de 13.88 μ para o *T. conorrhini* e de 19.85 μ para o *Schizotrypanum*. A variabilidade do comprimento total das formas metacíclicas em ambos os casos, avaliada pelo desvio padrão, mostrou-se muito pequena e quase idêntica: $\sigma = 1.532\mu$ para o primeiro e $\sigma = 1.625\mu$ para o segundo.

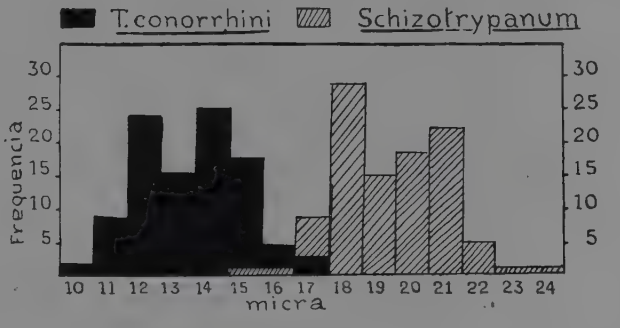


Fig. 2 — Distribuïção de freqüência das medidas do comprimento total de tripanosomas metacíclicos de *T. conorrhini* e de *Schizotrypanum* (100 formas de cada).

O gráfico da fig. 2 representa expressivamente o resultado das referidas medidas, mostrando o grau de independência das duas distribuïções de freqüência.

Na figura 3 vemos algumas formas metacíclicas do intestino posterior de *Triatoma infestans*, 52 dias depois de sugar animal infectado com *Trypanosoma conorrhini* (camondongo n. 2.111).

Na marcação, à câmara clara, das 100 formas metacíclicas do *T. conorrhini* que foram medidas, houve seleção por parte do operador, que escolheu em farto material as formas mais perfeitas e bonitas, em detrimento dos parasitos pequenos e largos, muitas vezes irregulares, cuja reprodução no desenho, em maior número, haveria de abaixar o limite inferior da distribuïção de freqüência verificada e portanto a média aritmética do comprimento total. Como já veremos, num escasso material que não comportava escôlha, em meia duzia de tripanosomas marcados foram encontrados indivíduos com menos de 10 μ, inexistentes naquela distribuïção.

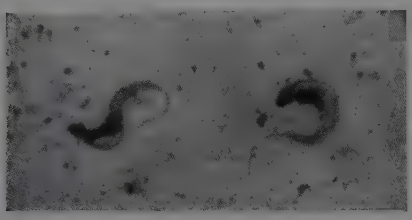


Fig. 3 — Tripanosomas metacíclicos de *T. conorrhini* no *Triatoma infestans*.

Os primeiros dados que obtivemos sôbre o comprimento total dos tripanosomas metacíclicos, comparativamente, em ambos os flagelados do barbeiro de que tratamos, referiam-se a apenas seis indivíduos de cada.

Vamos reproduzí-los, pois o *T. conorrhini* aqui foi medido em *T. rubrofasciata* espontâneamente infectado (Rio de Janeiro). O *Schizotrypanum cruzi* era também de barbeiro naturalmente parasitado (*Triatoma infestans* de Fartura, Estado de São Paulo), do qual foi isolada uma amostra com caractéres típicos do *S. cruzi* humano.

Tripanosoma n.	*T. conorrhini*	*S. cruzi*
1	9.7 μ	22.0 μ
2	12.8	21.3
3	16.4	20.1
4	13.4	18.3
5	10.9	20.7
6	8.5	23.1
Média	12.0	20.9

A estampa I do presente trabalho foi organizada com a finalidade de possibilitar a comparação entre as formas metacíclicas de *T. conorrhini* do intestino do *T.rubrofasciata* de diversas partes do mundo, entre si e também com as formas finais da evolução do *Schizotrypanum*. Assim, reproduzimos algumas figuras de LAFONT (1912*b*) (figs. 1-2-3) e de MORISHITA (1935) (figs 4 a 11), mostrando respectivamente os parasitos das ilhas Mauritius e Formosa; figuras originais mostram o parasito em *T. rubrofasciata* do Rio de Janeiro (figs. 12 a 16) e em *T. infestans* (figs. 17 a 39), e reproduzimos alguns dos desenhos de FLOCH & LAJUDIE (1940) mostrando o flagelado que observaram no *T. rubrofasciata* de Cayena. Na estampa II, composta sómente por desenhos originais, estão representados muitos aspectos da evolução do *T. conorrhini* do Rio de Janeiro, no *T. infestans*.

Quanto às formas sanguícolas de ambas as estampas, delas trataremos mais adiante.

Para maiores detalhes quanto ao material que serviu para as ilustrações, vide explicações das estampas I e II.

Evolução em outras espécies de barbeiro

Na natureza o T. conorrhini ainda não foi encontrado em invertebrados a não ser no seu agente transmissor intermediário, o *Triatoma rubrofasciata*.

Em condições experimentais MORISHITA (1935) verificou a possibilidade dele se desenvolver em outro hemíptero hematófago, o *Rhodnius prolixus*.

A amostra de *T. conorrhini* do Rio de Janeiro evoluiu fàcilmente nas seguintes espécies: *Triatoma infestans, Triatoma vitticeps, Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus*. Novos resultados estão sendo esperados a êste respeito.

Experimentação em animais

Aparentemente, os primeiros ensaios no sentido de transmitir o *T. conorrhini* a animais, por inoculação e por picada de insetos naturalmente infectados, foram realizados por LAFONT (1912-*a*). Os resultados foram negativos em cobaia, coelho mangusta e macaco (*M. cynomulgus*). Nos ratos (*Mus decumanus* e *Mus rattus*), quando adultos, parasitos foram vistos até 24-30 horas, depois da inoculação intraperitoneal, na serosidade da cavidade abdominal, mas não no sangue periférico. No camondongo selvagem o parasito foi achado na circulação em período que variou entre seis horas e sete dias aí permanecendo visíveis sòmente de um a cinco dias. Nas primeiras horas, os parasitos assemelham-se ás formas injetadas do inseto, transformando-se depois em tripanosomas grandes (28 a 42μ), de extremidade posterior muito afilado ou em forma de bico, com núcleo e blefaroplasto próximos um do outro. Os ensaios por picada foram sempre negativos.

No seu trabalho seguinte LAFONT (1912*b*) dá novos detalhes sôbre a infeção do rato e do camondongo (*Mus musculus*) e refere a observação de um *Macacus cynomolgus* injetado no peritoneo com dose maciça de conteúdo intestinal de 5 *T. rubrofasciata*. No sangue do animal, 10 dias depois, um único tripanosoma de grandes dimensões foi observado a fresco, parasitos não tendo sido encontrados em preparados corados.

SHORTT & SWANINATH (1928) inocularam por via peritoneal dois camondongos brancos e uma cobaia com material de 8 *T. rubrofasciata* do Assam, examinando-lhes o sangue a curtos intervalos. A cobaia morreu negativa 10 dias depois e os camondongos apresentaram raros tripanosomas no sangue 13, 14 e 15 dias mais tarde, desaparecendo em seguida ao exame direto.

BONNE (1935, 1937) também estudou o assunto em Java: "Intraperitoneal injection of these Crithidia in mice produced infections of these animals with trypanosomes of large size... The trypanosomes were always very scanty and usually difficult to find even in thick drop preparation. If trypanosomes could not be detected in the blood of the mice by direct microscopical examination it was usually possible to demonstrate their presence by BRUMPT's xenodiagnostic method" (BONNE 1937, pág. 395).

No rato (*Rattus rattus diardi*) com infecção natural, segundo o mesmo autor, os tripanosomas são também muito escassos e talvez inconstantemente presentes no sangue. Mesmo num rato no qual o xenodiagnóstico revelou a existência de uma infecção duradoura, parasitos nunca puderam ser encontrados no sangue periférico em gotas espessas. Uma de suas importantes

conclusões é a de que *"A leishmania tissue stage is absent in the vertebrate host"*.

A infeção experimental do camondongo foi minuciosamente estudada por MORISHITA (1935), que nas seguintes conclusões de seu trabalho resume os principais fatos a respeito :

"16. *T. conorrhini* may appear in the peripheral blood as soon as after the intraperitoneal injection of the gut contents, although in some cases the first appearance was as late as 8 days after. This difference in the incubation period seems to be attributable to variable number of metacyclic trypanosome forms present in the injected material; in oral infections the incubation period was 1 day and in percutaneous 11 days. days.

17. Under experimental conditions the infection by *T. conorrhini* lasts in normal mice for 1.36 days, correlated to the number of the trypanosomes appearing in the blood. Heavy infections last on the average for 12.8 days; light infections for 19.4 days.

18. The number of parasites in the peripheral blood is not subject to much variation, but depends upon the number introduced by the inoculation.

19. Similar peculiarity is also observed in young mice, contrary to the expectation that they may be less resistent.

20. Sub-inoculation of the mammalian form has not succeeded beyond the first and even the first sub-inoculation resulted in very light infections."

Voltando mais tarde ao assunto, MORISHITA (1938) assinala que: "this early apearance in the peripheral blood reveals that they do not undergo their division in any tissue of host, which is, however the case in *Schizotrypanum cruzi.*" Êste é um caráter de grande importância para a distinção entre os gêneros *Trypanosoma* e *Schizotrypanum* (v. DIAS 1939).

O referido autor aparentemente não trabalhou senão com poucas espécies animais, pois no sumário refere apenas que o *T. conorrhini* pode transformar-se em tripanosomas típicos quando inoculado em camondongos e em ratos, mas não em pombos.

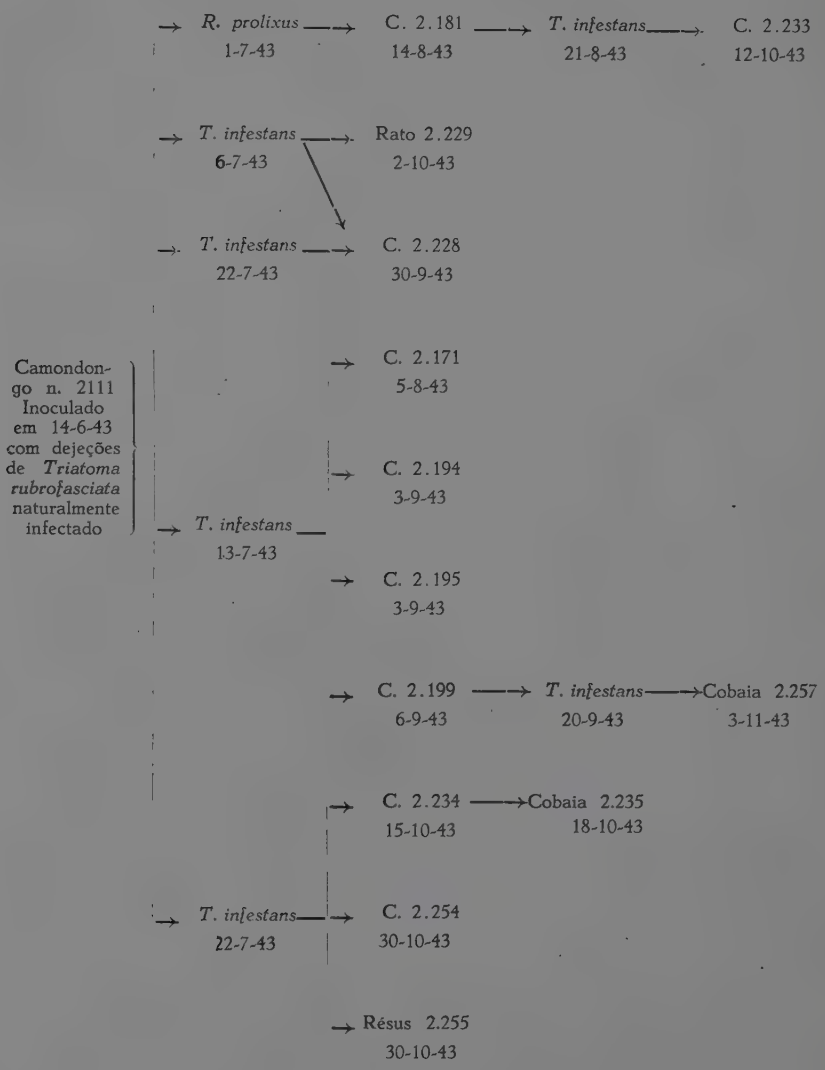
Uma verificação sua que muito nos interessa é a de que "Animals recovered from the infection of *T. conorrhini* can be readily infected with *T. cruzi*..." (MORISHITA 1935, pág. 541), acrescentando porém, sem que pos-

samos atinar com suas razões, "... which seems to be biologically similar to the former".

Nossa experiência em animais é ainda limitada, com o *T. conorrhini*. Obtivemos a infecção inicialmente em camondongo branco por inoculação intraperitoneal de dejeções de *T. rubrofasciata*, e depois em outros animais, como ratos e résus. A via mencionada foi constantemente a usada, embora às vêzes simultâneamente utilizássemos outra vias, como a subcutânea, a digestiva e a conjuntival.

O esquema genealógico anexo mostra o passado de nossa amostra, desde o seu isolamento em junho de 1943. Por êle se vê que não foram feitas inoculações diretas de animal a animal, mas sempre com passagem pelo triatomídeo, alternando o animal com o inseto, a não ser no caso da cobaia 2.235. Na sua grande maioria as infeções obtidas foram inaparentes, só reveladas pelo xenodiagnóstico. Sòmente em três oportunidades nos foi dado observar o tripanosoma em exame de sangue entre lâmina e lamínula no camondongo 2.111 (14 dias depois da inoculação), no camondongo 2.234 (três dias e) no resus 2.255 (cinco dias). Nas outras vêzes a infeção é evidenciada pelo xeno, como dissemos, motivo pelo qual ainda não há tempo para apurarmos o resultado de certas inoculações mais recentes (cobaia 2.257, cobaia 2.235 e outras).

"GENEALOGIA" DA AMOSTRA DE *TRYPANOSOMA CONORRHINI* DE *TRIATOMA RUBROFASCIATA* DO RIO DE JANEIRO


→ R. prolixus → C. 2.181 → T. infestans → C. 2.233
1-7-43 14-8-43 21-8-43 12-10-43
→ T. infestans → Rato 2.229
6-7-43 2-10-43
→ T. infestans → C. 2.228
22-7-43 30-9-43
Camondongo n. 2111 Inoculado em 14-6-43 com dejeções de Triatoma rubrofasciata naturalmente infectado
→ C. 2.171
5-8-43
→ C. 2.194
3-9-43
→ T. infestans
13-7-43
→ C. 2.195
3-9-43
→ C. 2.199 → T. infestans → Cobaia 2.257
6-9-43 20-9-43 3-11-43
→ C. 2.234 → Cobaia 2.235
15-10-43 18-10-43
→ T. infestans → C. 2.254
22-7-43 30-10-43
→ Résus 2.255
30-10-43

As datas, quando sob o nome de barbeiros, indicam o dia de alimentação dêstes em animais infectados, e sob animais indicam o dia da inoculação. C = camondongo branco.

O animal que pudemos observar por tempo mais prolongado foi o camondongo nº 2111 primeiro inoculado. Contra um único exame a fresco positivo teve 25 negativos, até a data da morte, 24-8-1943. No mesmo dia em que foi positivo no sangue (26-8-43) o exsudato peritoneal, puncionado e examinado a fresco, estava negativo.

Todos os xenodiagnósticos praticados neste animal foram positivos:

XENODIAGNÓSTICOS DO CAMONDONGO 2.111

Data	Resultado	Espécies infectadas	Data 1.º exame positivo
28-6-43	positivo	*Rhodnius prolixus*	17-7-43
1-7-43	positivo	*T. infestans, R. prolixus*	14-8-43
6-7-43	positivo	*T. infestans*	14-8-43
13-7-43	positivo	*T. infestans*	5-843
22-7-43	positivo	*P. megistus, T. infestans*	3-9-43
6-8-43	positivo	*T. infestans*	3-9-43

Uma infecção inaparente foi portanto revelada até 53 dias depois da inoculação, enquanto que ao exame a fresco foi visto apenas uma vez um tripanosoma.

Uma indicação de que a infecção pode durar muito mais tempo em estado inaparente é o fato de que os animais que sobrevivem adquirem, segundo Morishita (1935), uma imunidade absoluta contra re-infecção, a qual pode ser retida até 107 dias, e vai decrescendo daí por diante de modo a que 165 dias depois do desaparecimento dos parasitos da circulação, a reinfecção é possivel: "After a certain duration of infection, however, complete immunity is the result, even if splenectomy is carried out" (p. 541).

Em ratos com infecção natural acompanhados pelo xeno, Bonne (1937) observou a persistência do parasitismo durante pelo menos três mêses.

MORFOLOGIA DO TRIPANOSOMA NO SANGUE

Para Morishita (1935, pág. 539), "The most striking characteristics of the mammalian form of *T. conorrhini* is its extraordinarily elongated body with thread-like posterior part, and the presence of a pot-shaped structure just in front of the parabasal body".

Bonne (1937) considera característicos os seguintes *items*: 1) a posição típica do macronúcleo, adjacente ao corpúsculo parabasal; 2) as amplas curvas da membrana ondulante; 3) a extremidade posterior muito longa e ponteaguda.

Estas descrições correspondem aos tripanosomas por nós observados no sangue do camondongo branco e do résus, como se pode ver pelas nossas figuras (Estampa I, 59-60, Est. II, 1-2-3-4) que muito se assemelham ás de LAFONT (1912*b*), MORISHITA (1935) e BONNE (1937) (Est. I, 56-57-58, respectivamente). Além disto, tivemos ensêjo de examinar uma preparação do Dr. MORISHITA, por êle doada á Secção de Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz, quando alí esteve em 1937. Ao Dr. JULIO MUNIZ, chefe desta Secção, agradecemos a oportunidade dêste exame, que nos permitiu estabelecer com maior segurança a identidade do tripanosoma transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata* no Rio de Janeiro, com o do mesmo inseto na ilha da Formosa, no Oriente.

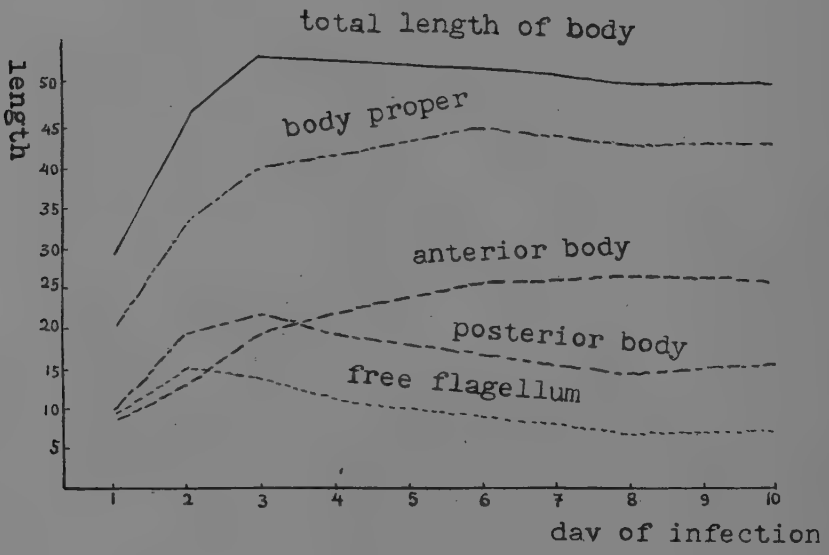


Fig. 4 — Modificações do comprimento das diferentes partes do tripanosoma no decurso da infecção no camondongo; média de 10 indivíduos para cada dia. Segundo Morishita 1935, fig. 3, pág. 489.

Desde LAFONT (1912*b*) sabe-se que nas primeiras horas após a inoculação de dejeções contaminadas, os flagelados passam para o sangue, onde conservam por algum tempo o mesmo aspecto dos tripanosomas do inseto, transformando-se depois nos grandes tripanosomas já descritos. MORISHITA (1935) estudou em detalhe a marcha inicial da infecção, acompanhando dia a dia as dimensões dos parasitos no sangue, cujas variações representou em gráfico que reproduzimos na figura 4.

Como tem sido muito escassas as infecções que temos obtido, ainda não conseguimos encontrar tripanosomas no sangue em esfregaços fixados e corados. Entretanto, pudemos observá-los em gotas espêssas feitas por um processo bastante adeqüado ao estudo da morfologia do hemoflagelado, como se vê pelas nossas figuras (Est. I, 59-60, Est. II, 1-2-3-4)) que mostram parasitos desenhados de referidas preparações. E' um processo muito bom, que será brevemente descrito pelo Dr. ERRECART, do Uruguai; dêle tivemos conhecimento por intermédio do Professor RODOLFO TÁLICE, que nô-lo aconselhou para a observação, em boas condições, do *S. cruzi* em gotas espêssas.

Dos tripanosomas que vimos e figurámos foram tomadas as medidas que estão abaixo relacionadas.

MEDIDAS DO *T. CONORRHINI* NO SANGUE DE ANIMAIS (μ)

Tripanosomas	Camond. 2234		Résus 2255			
	I	II	I	II	III	IV
Extr. post — blefaropl.	9.1	6.7	12.8	12.2	12.8	13.4
Blefaroplasto — núcleo	4.2	3.0	6.1	4.8	5.4	4.8
Núcleo — extr. anterior	17.0	20.7	26.8	27.5	28.1	26.8
Flagelo livre	10.9	9.1	9.1	10.4	11.0	11.0
Comprimento total	41.2	40.0	54.8	54.9	57.3	56.0

Nos dois animais os tripanosomas foram medidos no quarto dia de infecção, mas apesar disto observam-se sensiveis diferenças de tamanho, sendo os do camondongo bem menores do que os do résus. Estas diferenças, entretanto, podem perfeitamente estar dentro dos limites de variação, o que não pode ser esclarecido em número tão reduzido de especimens observados e medidos.

Multiplicação. Não se conhece ainda o processo de multiplicação do *T. conorrhini* no animal sensível, e nem se sabe mesmo se há multiplicação. Tripanosomas nunca foram vistos no sangue com evidência de divisão, embora intensas infecções já tenham sido obtidas. Formas especiais de multiplicação também não foram encontradas nos tecidos dos animais infectados.

Pesquisa do T. Conorrhini em ratos do Rio de Janeiro. — Até agora os autores tiveram oportunidade de praticar o xenodiagnóstico em cinco ratos do Quartel da Policia Especial, onde tem sido capturado exemplares de *T. rubrofasciata,* tendo sido negativos todos os resultados.

Possibilidade do T. conorrhini ter sido préviamente encontrado na América do Sul.

Esta hipótese não pode deixar de ser feita após a leitura dos trabalhos de LUCENA (1940) e de FLOCH & DE LAJUDIE (1942), que passamos a resumir e analisar.

O primeiro autor encontrou no Recife, em abril de 1939, à noite e dentro de casa, quatro *T. rubrofasciata* adultos, três dos quais apresentavam no intestino critidias e tripanosomas metacíclicos. Estes ultimos, a fresco, "assemelhavam-se consideràvelmente" ao *S. cruzi;* corados, "as formas menores mediam 9.8 μ e as maiores 13.3 μ. Inoculações foram praticadas em duas cobaias jovens, de 15 dias de idade, em 8-4-1939, morrendo os animais em 17-4-39. Exames negativos do sangue foram feitos nos dias 10, 11, 12 e 13. Exame histológico, negativo. Xenodiagnósticos positivos são referidos nos dias 11, 13 e 15-4-39, não havendo porém referência à morfologia dos flagelados observados nos insetos de prova, que foram das espécies *T. rubrofasciata* e *P. megistus.*

FLOCH & LAJUDIE (1942) encontraram em Cayena 2 *T. rubrofasciata* infectados por um "esquizotripanosoma" de que dão vários desenhos. Mencionam inoculação positiva em rato branco, sem dizer, contudo, se chegaram a observar o parasito no sangue, nem como.

Se de um lado, em ambos os casos, faltou a demonstração de que fôsse um *Schizotrypanum* o flagelado observado, de outro lado consideramos muito possível que se tratasse do próprio *Trypanosoma conorrhini,* pelas razões que passaremos a expor.

a) no sangue dos animais inoculados não foi observado, ou descrito, o aspecto morfológico do tripanosoma;

b) a morfologia das formas metacíclicas, mostrada pelas figuras dos citados trabalhos, é bastante sugestiva do estádio final do *T. conorrhini* no inseto (v. nossa estampa I, figs. 40-41-42-43);

c) as dimensões das formas metacíclicas referidas por LUCENA (1940), de 9.8 μ a 13.3 μ, acham-se bem dentro dos limites de variação do comprimento das mesmas formas do *T. conorrhini* e fóra dos do *S. cruzi.* Os autores franceses não referem mensurações e não indicam o aumento de sua figura n. 4;

d) LUCENA consigna um xenodiagnóstico positivo em cobaia inoculada com dejeções de barbeiro havia apenas três dias, o que fala a favor do *T. conorrhini,* que passa ràpidamente para o sangue, e contra o *S. cruzi,* que nas

inoculações de metacíclicos só aparece no sangue quatro a cinco dias depois, em seguida à evolução característica do gênero no interior dos tecidos (v. Dias 1936-b, pág. 113-117). Terminando estas considerações sôbre o trabalho dêste pesquisador patrício, não podemos deixar de referir que um de nós (E. D.) teve ensêjo de sugerir-lhe verbalmente, ao ser solicitada sua opinião sôbre o trabalho, que aguardasse a observação das formas sanguícolas, que identificariam fóra de qualquer dúvida o parasito, antes de publicar as suas observações. Aliás, sôbre o assunto já havia aparecido uma nota prévia, por Lucena e Magalhães Netto (1939).

Com referência ainda às investigações na Guiana Francesa, Floch (1943) relata que dentre 88 exemplares de *T. rubrofasciata* capturados e examinados, 31 estavam infectados por flagelados indenticos ao *S. cruzi;* inoculações em cobaia, porém, não determinaram infecções aparentes e apenas uma vez foi evidenciada a presença de parasitos por meio de xenodiagnóstico. Estes resultados vêm ainda corroborar na hipótese de que aquela espécie de barbeiro cosmopolita é também portadora do *T. conorrhini* na referida colônia francesa sul-americana.

A existência da infecçãc natural do *T. rubrofasciata* por flagelados do gênero *Schizotrypanum* foi demonstrada no Estado de Pernambuco por Dias e Neves (1943), em trabalho que deverá aparecer juntamente com o presente.

Os triatomas como possíveis transmissores de parasitos do gênero Trypanosoma

Baseado na opinião de Wenyon (1926), Dias (1936) chegou a admitir que provàvelmente todos os flagelados encontrados no tubo digestivo de hemípteros hematófagos (Reduviidae) fôssem formas evolutivas de flagelados do gênero *Schizotrypanum,* considerando entre êles o *Trypanosoma boylei* Lafont, do *Triatoma rubrofasciata.* Reforçava aparêntemente êste ponto de vista, o fato de que tôdas as tentativas realizadas no sentido de se conseguir a evolução de verdeiros tripanosomas nos triatomídeos, haviam sempre resultado negativas. A verdade, porém, é que o *T. conorrhini* é um *Trypanosoma* cujo vector intermediário natural é um triatoma, o *T. rubrofasciata,* capaz além disto de evoluir em outras espécies de triatomídeos em condições experimentais. Além dêste tripanosoma ainda não se conhecem outros do mesmo gênero certamente capazes de desenvolver-se nestes hemípteros.

Julgamos de utilidade reunir no quadro anexo uma série de espécies do gênero *Trypanosoma* cuja evolução artificial foi tentada sem resultado em diferentes espécies de barbeiro. Dentre êsses tripanosomas tém especial importância o *T. lewisi* e o *T. neotomae* que, como o *T. conorrhini,* são para-

sitos de ratos; aqueles, porém, têm como transmissores naturais as pulgas. Assim, o xenodiagnóstico com barbeiros "puros" representa um meio para a distinção entre aqueles dois tripanosomas e o *T. conorrhini*. Não se deve, porém, esquecer que a dissecção dos insetos de prova nas primeiras horas pode ainda revelar a existência de formas móveis de *T. lewisi* ou de *T. neotomae* no estômago, em via de distruição. Com o *T. conorrhini*, ao contrário, o parasitismo tende a estabelecer-se no barbeiro, particularmente no *Triatoma rubrofasciata* e no *Triatoma infestans*, como vimos.

Recentemente Floch, Lajudie & Abonnenc (1941) descreveram num tamanduá da Guiana Francesa, *Myrmecophaga tridactyla*, um grande tripanosoma do grupo *lewisi*, suscetível, a seu ver, de evoluir no *Rhodnius prolixus*. Alimentando uma larva de *Rhodnius* no segundo estádio no animal infectado, verificaram que o inseto "a presenté au 2ème jour, de nombreux flagellés dans ses déjections". Referem os autores que "l'aspect du parasite rappèlle indiscutablement celui de la forme sanguine", achando também que esse aspecto lembra o figurado por Tejera (1920) para o *Trypanosoma rangeli* do intestino do *Rhodnius prolixus* da Venezuela. Se bem que seja perfeitamente possível a existência de mais de um tripanosoma suscetivel de evolução em triatomideo, julgamos dever-se esperar a confirmação do fato em melhores condições de observação.

Ainda mais recentemente Floch & Abonnenc (1942), fazendo *R. prolixus* picar um *Cebus* sp. (*fulvus?*), em cujo sangue não haviam encontrado tripanosomas ao exame em gota espessa, verificaram nas dejeções do inseto flagelados com a morfologia muito semelhante à do *Trypanosoma rangeli*, não precisando, entretanto, as condições em que trabalharam.

ENSAIOS NEGATIVOS DE EVOLUÇÃO DE TRIPANOSOMAS EM BARBEIROS

TRYPANOSOMA	*BARBEIRO*	*AUTORIDADE*
T. akodoni	*T. infestans*	Carini & Maciel 1915.
T. brucei	*T. protracta*	Packchanian 1938
"	*P. megistus*	"
"	*T. sanguisuga ambigua*	"
T. equinum	*T. infestans*	"
"	"	Mayer (cit. por Malamos 1935)
"	*P. megistus*	Muniz & Dias (cit. por Dias 1936)
"	*T. sordida*	" " " " " " "
T. equiperdum	*P. megistus*	Dias 1936-A
T. evansi	*T. rubrofasciata*	Lafont 1912
T. gambiense	*P. megistus*	Dias 1936
T. hippicum	*T. protracta*	Packchanian 1938
"	*T. sanguisuga ambigua*	"
"	*P. megistus*	"
T. lewisi	*T. infestans*	Maggio & Rosembusch 1936

TRYPANOSOMA	*BARBEIRO*	*AUTORIDADE*
T. lewisi	*T. infestans*	Malamos 1935
"	*T. protracta*	Kofoid & Donat 1933
"	"	Wood 1936
"	*T. rubrofasciata*	Bonne 1936
T. minasense	*T. infestans*	Dias 1936-B
T. neotomae	*T. protracta*	Wood 1936
T. neveulemairei	*T. rubrovaria*	Brumpt 1928
T. venezuelense	*T. prolixus*	Torrealba 1935
"	*T. maculata*	Torrealba 1935
Trypanosoma sp. (*)	*T. prolixus*	Rey Matiz 1941

Resumo e conclusões

Os autores, após historiar a descoberta do *Trypanosoma conorrhini* (Donovan, 1909) (sinonimia *Crithidia conorrhini* Donovan, 1909, *Trypanosoma boylei* Lafont, 1912) no inseto transmissor e no hospedeiro vertebrado, o *Rattus rattus diardi*, fazem um estudo sumário do seu vector intermediário, o barbeiro cosmopolita *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773).

Em seguida, referem a captura, no centro da cidade do Rio de Janeiro, Brasil, de um exemplar adulto dêste barbeiro parasitado por flagelados que foram identificados ao *Trypanosoma conorrhini*, fato êste pela primeira vez verificado no Novo Mundo.

Certas formas evolutivas dêste parasito no inseto são muito semelhantes às do *Schizotrypanum cruzi*, mas os tripanosomas metacíclicos apresentam alguns caractéres morfológicos que permitem seu reconhecimento : os mais notáveis são o pequeno tamanho e a colocação do núcleo muito para trás, bem junto ao blefaroplasto. São dadas as medidas de 100 tripanosomas metacíclicos do *T. conorrhini* e de *Schizotrypanum*, cujo comprimento total médio foi, respectivamente, 13.88 μ e 19.85 μ.

Nas seguintes espécies de barbeiro foi facilmente obtida a evolução do *Trypanosoma conorrhini*: *Triatoma infestans*, *Triatoma vitticeps*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*.

Por inoculação de triatomas infectados foi obtida a transmissão do *T. conorrhini* ao camondongo branco, ao rato e ao macaco *rhesus*. As infecções foram muito fracas, custando-se a ver o tripanosoma no sangue, a fresco. Em gotas espêssas êle é encontrado com mais facilidade, mas o método de escôlha para verificação da sua presença no sangue dos animais é o xenodiagnóstico. Nesta prova o *Triatoma infestans* foi empregado com os resultados mais favoráveis. Por êste processo foi observada a infecção inaparente de um camondongo até 53 dias depois da inoculação.

(*) Parasito de roedor, *Dasyprocta variegata*.

A forma sanguícola do *T. conorrhini* é um tripanosoma típico, de grande dimensões (40-60μ), de extremidade posterior muito alongada e pontuda, membrana ondulante ampla e com largas pregas, blefaroplasto subcentral; em muitos indivíduos é notável uma estrutura particular, junto e à frente do blefaroplasto.

Poucas horas depois de inoculados com as dejeções, os flagelados passam para a circulação, transformando-se em 3-4 dias nos grandes tripanosomas que acabam de ser descritos. O número de parasitos depende do número de flagelados inoculados. Não se conhece o processo de multiplicação do *T. conorrhini* no vertebrado, nunca tendo sido observados tripanosomas em via de divisão no sangue nem formas proliferativas nos tecidos. As sub-inoculações (de animal a animal) em geral não passam da primeira (MORISHITA, 1935).

Tentativas até agora realizadas por outros pesquisadores no sentido de cultivar o *T. conorrhini* a partir do sangue de animais infectados, têm sido negativas.

Por enquanto as pesquisas tendentes a determinar o hospedeiro vertebrado do parasito no Rio de Janeiro limitam-se à aplicação do xenodiagnóstico em cinco ratos do Môrro de Santo Antônio, cujo resultado foi negativo.

A presença do *T. conorrhini* na América do Sul, onde ha extensas zonas de doença de Chagas, deve estar bem presente no espírito dos investigadores durante as pesquisas neste terreno, para evitar possíveis enganos, que provàvelmente já ocorreram antes de demonstrada a existência daquele flagelado, cujo transmissor é também um hemiptero hematófago.

Até agora o *T. conorrhini* parece ser o único do gênero *Trypanosoma* transmitido em condições naturais por triatomídeos. Os autores dão uma lista de varias espécies cuja evolução foi ensaiada com resultados negativos em diversas espécies dêstes hematófagos.

English summary

In the present paper details are given on the discovery of *Trypanosoma conorrhini* (DONOVAN, 1909) (syn. *Crithidia conorrhini* DONOVAN, 1909; *Trypanosoma boylei* LAFONT, 1912) in its insect vector, *Triatoma rubrofasciata* (DE GEER, 1773) and in its vertebrate host, the rat (*Rattus rattus diardi*). The universal geographic distribution of *Triatoma rubrofasciata* is recorded.

The writers report the finding in Rio de Janeiro, Brazil, of an adult example of *T. rubrofasciata* infected with flagellates that are referable to *Trypanosoma conorrhini*.

The close resemblance of certain forms of this flagellate to the insectan forms of *Schizotrypanum cruzi* is emphasized. Metacyclic trypanosome forms of each species, however, may be distinguished; those of *Trypanosoma conorrhini* are shorter and their nucleus is closer to the parabasal body than in *Schizotrypanum cruzi*. Data concerning the measures of 100 metacyclic forms of each species are given: The mean total length of *T. conorrhini* was 13.88μ and that of *Schizotrypanum* was 19.85μ.

The experimental evolution of *T. conorrhini* has been easily obtained in *Triatoma infestans, Triatoma vitticeps, Rhodnius prolixus* and *Panstrongylus megistus*.

By the intraperitoneal inoculation of white mouse, rat and Rhesus monkey light infection were produced. Parasites were rarely seen in fresh blood preparations, but could be easily demonstrated in the peripheral blood of apparently recovered mice untill 53 days after the inoculation, by "xenodiagnosis".

The blood form of *Trypanosoma conorrhini* is a large trypanosome with long and pointed posterior end, a sub-central parabasal body with a particular pot-shaped structure just in front of it, and a wide ondulating membrane.

A few hours after the peritoneal inoculation of the gut contents of infected *Triatoma rubrofasciata* parasites may appear in the blood, where in 3-4-days they reach the large size of the typical trypanosome form. The number of trypanosomes in the peripheral blood depends upon the number of parasites in the inoculum.

It is interesting to note that so far division forms of *T. conorrhini* have never been found in the blood or tissues of infected animals. Sub-inoculation of the blood forms usually do not succeeded beyond the first, and even the first sub-inoculation result in very light infection. Cultures from the infected animal blood have not yet succeded (Morishita, 1935).

So far *Trypanosoma conorrhini* appear to be the only species of *Trypanosoma* transmitted by reduviid-bugs; a list is given of trypanosomes which failed to develop in such bugs on experimental conditions.

BIBLIOGRAFIA CITADA

Bonne, C.

1935. Over de Crithidien van *Triatoma rubrofasciata* de Geer. Geneeskundig Grydschrift voor Nederlandsch Indie 75 (17) : 1490; 75 (25) : 2.098-2.100.

1936. Over de Crithidien van *Triatoma rubrofasciata* de Geer. Ref. no Trop. Dis. Bul. 34 (7) : 565-566.

Bonne, C.

1937. The natural host of Trypanosoma (Crithidia) conorrhini, Donoven. Am. Jour. Trop. Med. 17 (3) : 393-399.

Bonne, C. & Mooy, W.

1937. Ueber Trypanosoma conorrhini, eine Trypanosomenart der Hauratte auf Java und ihre Uebertragung.
Festschrift Bernhardt Nocht, Hamburg, : 46-48.

Brumpt, E.

1928. Un nouveau Trypanosome : *Trypanosoma neveu-lemairei* n. sp. de la grenouille verte (*Rana esculenta*).
Anales Parasit. 6 (1) : 18-22.

Carini, A. & Maciel, J.

1915. Sur une hémogrégarine et un trypanosome d'un Muridé (*Akodon fuliginosus*)
Bull. Soc. Path. Exotique 8 (4) : 165-169.

Dias, E.

1936-*a*) Revisão geral dos Hemoflagellados de Chirópteros.
IX Reunião Soc. Argentina Patol. Reg., 1 : 10-88.

1936-*b*) Xenodiagnóstico e algumas verificações epidemiológicas na molestia de Chagas.
IX Reunião Soc. Argentina Patol. Reg., 1 : 89-119.

1939. O gênero Schizotrypanum Chagas, 1909.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 34 (2) : 193-227.
(in Port. & English).

1943. Presença de *Panstrongylus megistus* infectado por *Schizotrypanum* no Rio de Janeiro, D. F.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 38 (2) : 177-180.

Dias, E. & Freitas L.

1943. Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do gênero Schizotypanum.
I — Introdução, material e técnica, problema e métodos estatisticos.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 38 (3) : 427-436.

Dias, E. & Neves, O.

1943. Determinação de infecção natural por *Schizotrypanum* em *Triatoma rubrofasciata* no Estado de Pernambuco.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 39 (3) : 329-332.

Donovan, C.

1909. Kala-azar in Madras. Tran. Bombay Med. Congr., 1909 Feb., 24 th. 159.
(Citado por Morishita, 1935).

Elkeles, G.

1940. Investigaciones sobre la evolución del *Trypanosoma cruzi*.
Objeciones contra el concepto actual, y fundamentos para un nuevo concepto sobre la evolución del trypanosoma.
Rev. Soc. Argentina Biol. 16 (8) : 763-776.

1942. Investigaciones sobre el ciclo evolutivo del *Trypanosoma cruzi*.
Nueva teoria sobre la evolución de la forma tripanosómica.
Nueva técnica de fijación húmeda.
Semana Med., B. Aires, 49 (2.529) : 1-17.

Floch, H.

1943. Rapport sur le functionnement technique de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et du Territoire de l'Inini pendant l'année de 1942. Cayenne, Impr. du Gouv. 71 pág.

Floch, H. & Abonnenc, E.

1942. Trypanosomes évoluant dans le tube digestif de *R. prolixus*. Inst. Pasteur Guyane Fr. Terr. l'Inini 54 : 1-2.

Floch, H. & de Lajudie, P.

1942. *Cabassus lugubris* et *Didelphis cancrivora* naturellement infectés par *S. cruzi* en Guyane Française. *Triatoma rubrofasciata* vecteur naturel. Ins. Pasteur Guyane Terr. l'Inini 45 : 1-4.

Floch, H., de Lajudie, P. & Abonnenc, E.

1941. Un trypanosome d'un édenté (*Myrmecophaga tridactyla*) susceptible d'evoluer dans le tube digestif de *Rhodnius prolixus*. Inst. Pasteur Guyane Fr. Terr. l'Inini 25 : 1-6.

Hase, A.

1932. Beobachtungen an venezolanischen Triatoma-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der Triatomidae (Hemipt.-Heterop.). Zeitschr. f. Parasitenk. 4 (4) : 585-652.

Knowles, R.

1928. An Introduction to medical Protozoology. Calcutta.

Kofoid, C. & Donat, F.

1933. Experimental infection with Trypanosoma cruzi from intestine of cone-nose bug Triatoma protracta. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 30 : 489-491.

Lafont, A.

1912-*a*) Note sur un Trypanosomide du *Conorrhinus rubrofasciata* et son inoculation au rat et á la souris. C. R. Soc. Biol. 72 : 380-382.

1912-*b*) Trypanosomide d'un Réduvide (*Conorrhinus rubrofasciata*) inoculable à la souris. An. Inst. Pasteur 26 : 893-922.

Lavier, G.

1921. Les parasites des invertébrés hématophages. Parasites qui leur sont propres. Parasites qu'ils transmettent aux vertebrés. Lab. Paras. Fac. Med., Paris, Vigot Frères, 218 pág.

Lucena, D.

1940. Infecção natural do *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) pelo *Trypanosoma cruzi*. Chagas 1909. O Hospital, Rio de Janeiro, 18 (1) : 91-93.

Lucena, D. & Magalhães Netto, B.

1939. Infecção natural de *Triatoma rubrofasciata* pelo *Trypanosoma cruzi*. (nota prévia).
Rev. Assoc. Paulista Med. 15 (2) : 177.

Maggio, C. & Rosenbusch, F.

1916. Studien über die Chagaskrankheit in Argentinien und die Trypanosomen der "Vinchucas" (Wanzen, Triatoma infestans, Klug.).
Centralbl. f. Bakt. 77 : 40.

Malamos, B.

1935. Ueber Vorkommen von *Schizotrypanum cruzi* bei Affen in Niederlandisch-Indien.
Arch. f. Schiffs — u. Tropenhyg. 39 (4) : 166-171.

Meyer, F. H.

1936. Citado por Bonne, 1937.

Miranda, C.

1943. Nota sobre os transmissores da molestia de Chagas no Estado do Maranhão, Brasil.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 39 (3): 297-300.

Morishita, K.

1935. An Experimental Study on the Life History and Biology of Trypanosoma conorrhini (Donovan), Occurring in the Alimentary Tract of Triatoma rubrofasciata (De Geer) in Formosa.
Jap. Jour. Zool. 6 (3) : 459-546.

Morishita, K.

1938. On some Parasitological Interests in Formosa with Special References to Trypanosoma conorrhini and Tsutsugamushi Disease.
Rev. Med. Cir. Brasil 46 (2) : 225-232.

Neiva, A.

1914. Contribuição para o estudo dos redúvidas hematófagos. I. Notas sobre os redúvidas hematófagos da Bahia com a descrição de uma nova espécie.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 6 (1) : 35-39.

Neiva, A. & Lent, H.

1941. Sinópse dos Triatomideos.
Rev. Ent., Rio de Janeiro, 12 (1-2) : 61-92.

Packchanian, A.

1938. Susceptibility and resistance of various species of Peromyscus (American deer mice) to infection with Trypanosoma hippicum, and the possibility of certain "wild mice" being reservoir hosts to pathogenic trypanosomes.
Am. Jour. Trop. Med. 18 (5) : 587-593.

Rey Matiz, H.

1941. Observaciones sobre Trypanosomas em Colombia.
Rev. Fac. Med., Bogotá, 10 (1) : 25-49.

SHORTT, H. E. & SWANINATH, C. S.

1928. Preliminary note on three species of Trypanosomidae.
Ind. Jour. Med. Res. 16 : 241.

TORREALBA, J. F.

1935. Pequeñas notas sobre relaciones biologicas experimentales negativas entre algunos reduvideos y el Trypanosoma venezuelense o de la derrengadera.
Gaceta Med. Caracas 42 (9) : 140-141.

WENYON, C. M.

1926. Protozoology. London.

WOOD, F. D.

1936. Trypanosoma neotomae, sp. nov., in the dusky-footed wood rat and the wood rat flea.
Univ. Calif. Publ. 2 vol. 41 11) : 133-144.

ESTAMPA 1

a) Formas metacíclicas do *Trypanosoma conorrhini.*

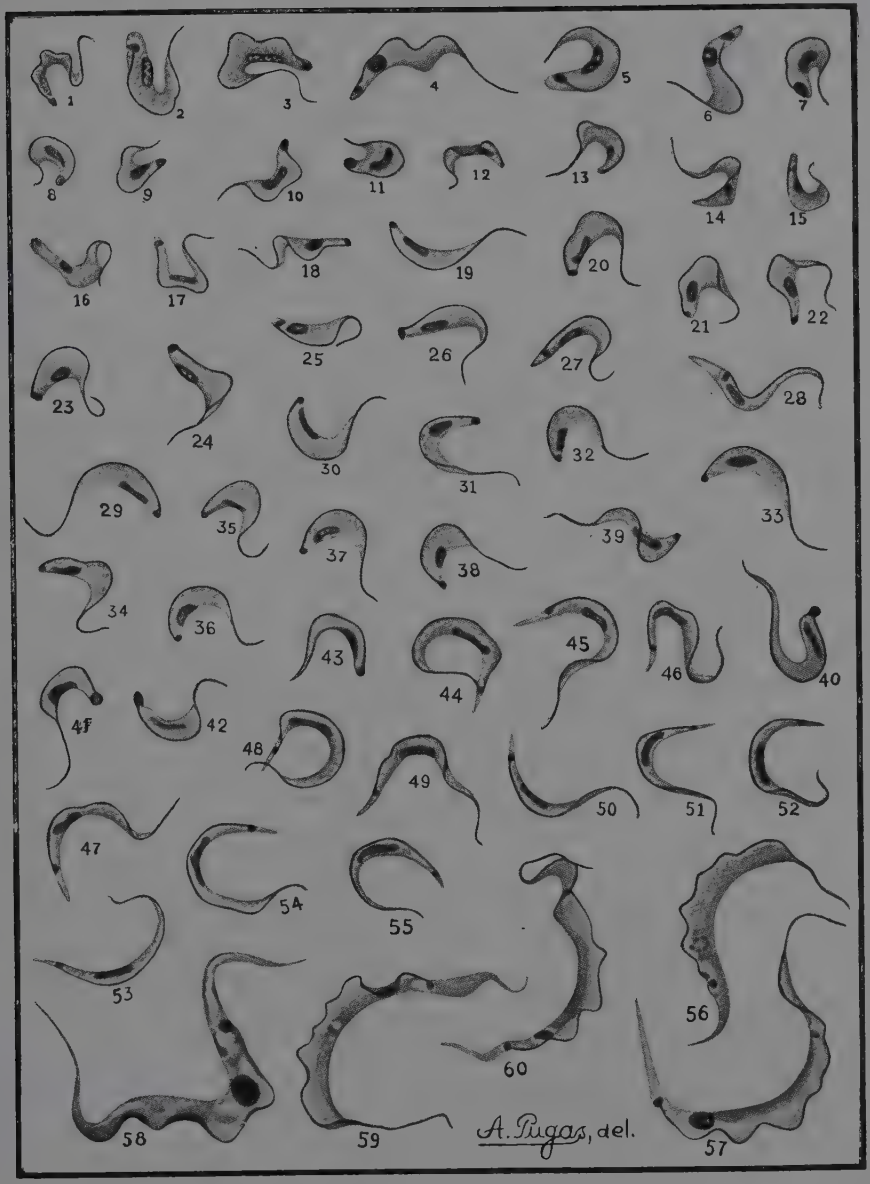
Figs. 1- 3: Reprodução das figuras 24-25-26 de LAFONT, 1912-*b*, intestino de *Triatoma rubrofasciata* de Mauritius.
Figs. 4-11: Reprodução das figuras 119-121-122-123-126-127-129-132 de MORISHITA, 1935, *T. rubrofasciata* de Formosa, Japão.
Figs. 12-16: De *Triatoma rubrofasciata* do Rio de Janeiro, infecção natural.
Figs. 17-28: De *Triatoma infestans* de xenodiagnóstico (camondongo 2.111, insetos alimentados em 22-7-43 e dissecados em 30-9-43).
Figs. 29-39: Idem, idem, insetos alimentados em 13-7-43 e dissecados em 3-9-1943.
Figs. 40-43: Reprodução de algumas das formas da fig. 4 de FLOCH & LAJUDIE, 1942; de *T. rubrofasciata* de Cayena, Guiana Francesa.

b) Formas metacíclicas de *Schizotrypanum.*

Figs. 44-49: De *Triatoma rubrofasciata* de Nazaré, Pernambuco.
Figs. 50-55: De *Panstrongylus megistus* do Rio de Janeiro (Santa Tereza).
(Nota: as figuras originais foram obtidas de preparações fixadas pelo álcool absoluto e coradas pelo Giemsa).

c) Formas sanguícolas do *Trypanosoma conorrhini.*

Figs. 56: Reprodução da figura 81 de LAFONT, 1912-*b*. (Mauritius).
Figs. 57: Reprodução da figura 14 de MORISHITA, 1935 (Formosa).
Figs. 58: Reprodução da figura 1 de BONNE, 1937 (Java).
Figs. 55-60: Originais. De Camondongo, n. 2.234, quarto dia de infecção. Gota espêssa preparada pelo método de Errecart e corada pelo Giemsa.
(Nota: Tôdas as figuras originais foram marcadas à câmara clara com o mesmo aumento que o indicado pela escala da estampa II, que aquí não reproduzimos para não causar confusão devido às figuras tomadas de outros autores a escalas diversas).



Dias e Campos Seabra: Trypanosoma conorrhini

ESTAMPA 2

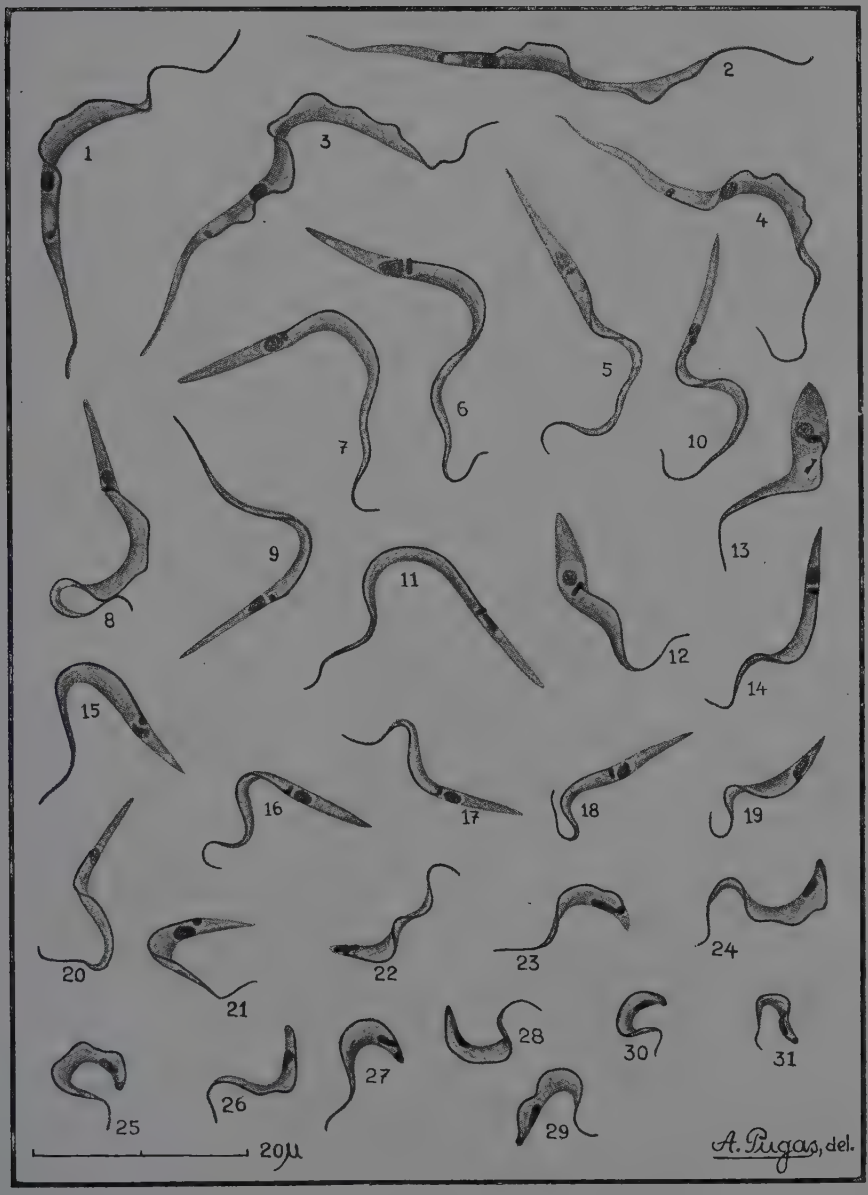
Figs. 1-4: *Trypanosoma conorrhini* no sangue do rhesus 2.255 (quatro dias após a inoculação). Gota espêssa corada pelo Giemsa e preparada pelo método de ERRECART.

Figs. 6-20: Formas de critídia do *T. conorrihini* no *Triatoma infestans.*

Figs. 21-22-23: Formas de transição.

Figs. 24-31: Tripanosomas metáciclicos.

Nota: As figuras 6 a 31 foram obtidas de preparados de um *Triatoma* infestans que sugou o camondongo 2.111 no dia 22-7-43 e que foi dissecado no dia 30-10-43, fornecendo material para a inoculação do résus 2.255. Fixação pelo álccol absoluto, coloração pelo Giemsa.



Dias e Campos Seabra: Trypanosoma conorrhini

Determinação da infecção natural por Schizotrypanum em Triatoma rubrofasciata no Estado de Pernambuco (*)

por

Emmanuel Dias e Oswaldo Neves

(Com uma figura no texto e uma estampa)

Recebendo um reimpresso do "Apêlo dos clínicos do interior para a colaboração no estudo da doença de Chagas" (Dias, 1942), um de nós (O. N.) dicidiu-se imediatamente a concorrer para o desenvolvimento que o Instituto Oswaldo Cruz está procurando dar ao estudo desta infecção, principiando por enviar à Divisão de Estudos de Endemias triatomas do Estado de Pernambuco, onde clínica.

O primeiro inseto remetido foi um *Triatoma rubrofasciata*, capturado em Nazaré, o qual chegou morto ao destino.

Diante do interêsse com que foi acolhido o material, dedicou-se com maior empenho ao assunto, fazendo novas remessas de insetos por via aérea.

No dia 19-8-1943 chegou ao Instituto Oswaldo Cruz, procedente de Engenho Salgado, Município de Nazaré, uma partida composta por 1 *T. rubrofasciata* e 13 *Panstrongylus megistus* vivos (duas fêmeas, quatro ninfas e sete larvas), sendo verificada em ambas as espécies a presença de flagelados nas excreções retiradas por punção retal. Tanto o exame a fresco como o de preparações coradas pelo Giemsa indicaram tratar-se de formas evolutivas de *Schizotrypanum*, pelos caracteres morfológicos dos tripanosomas metacíclicos (vide estampa).

Êste diagnóstico foi confirmado pelo aparecimento, no sangue dos animais inoculados, dos tripanosomas característicos dêste gênero, ou melhor, de esquizotrípanos.

Camondongo 2.185. Foi inoculado em 23-8-43 com dejeções de *T. rubrofasciata* da referida procedência, obtendo-se primeiro exame de sangue positivo, a fresco, em 27-8-43 (exames foram praticados diàriamente, diante da possibilidade da presença do *Trypanosoma conorrhini* no material inoculado, parasito êste que prococemente aparece na circulação; vide Dias &

* Recebido para publicação a 10 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

Campos Seabra, 1943). Eram esquizotrípanos típicos (fig. 1), de morfologia totalmente diferente da do *Trypanosoma conorrhini*: se no inseto transmissor as formas evolutivas de um e de outro flagelados podem levar a erros de identificação, no sangue dos animais inoculados a confusão é impossível.

A infecção do camondongo foi bastante fraca, morrendo o animal em 11-9-43, com último exame positivo a 9-9-43.

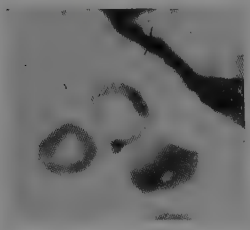


Fig. 1 — Esquizotrípano no sangue do camondongo 2185, inoculado com dejeções de Triatoma rubrofasciata de Nazaré (1700 vêzes).

Camondongo 2.189. Inoculado em 27-8-43 com dejeções de varios *P. megistus* de Nazaré, teve exame positivo em 5-9-43 (esquizotrípanos) e fazendo, como o precedente, uma infecção atenuada, do ponto de vista do número de parasitos no sangue. Ultimo exame positivo em 26-10-43 (ainda vive).

Cobaia 2.190. Inoculada no mesmo dia e com o mesmo material que o animal anterior; morreu em 16-9-43, sem chegar a ter exame a fresco de sangue positivo.

Passagem do sangue do camondongo 2.185 foi feita em 11-9-43 para dois camondongos (2.203 e 2.204); o primeiro sempre ficou negativo e o segundo apresentou esquizotrípanos no sangue, ao exame a fresco, em 22-9-43, tendo sido muito transitória a infecção aparente (dois exames positivos).

Pretendemos fazer um estudo mais aprofundado da morfologia da amostra de *Schizotrypanum* isolada de *T. rubrofasciata* de Pernambuco, se conseguirmos infecções mais intensas, que nos permitam desenhar e medir um número apreciavel de esquizotripanos.

Quanto às formas metacíclicas observadas no intestino posterior do inseto naturalmente infectado, damos abaixo a distribuïção da freqüência das medidas de 50 tripanosomas marcados à câmara clara e medidos com curvímetro (comprimento total, em μ):

Micra	17	18	19	20	21	22	23	24	Min.	Max.	Média
Freqüência.....	1	12	9	8	15	3	1	1	17.7	24.4	20.8

O desvio padrão foi de 1.52, indicando a pequena variabilidade do comprimento total das formas desenhadas, o que alias pode ser até certo ponto inferido pela inspeção da estampa I.

Aos autores afigura-se ser esta a primeira determinação segura e inquestionável da presença, no *Triatoma rubrofasciata,* de parasitos do gênero *Schizotrypanum* em condições naturais.

Como se sabe, êste triatoma cosmopolita transmite no Oriente um verdadeiro *Trypanosoma, o T. conorrhini* (Donovan, 1909), que Dias & Campos Seabra (1943) acabam de identificar no Rio de Janeiro.

Trabalhos anteriores referem a presença do *Schizotrypanum cruzi* no *T. rubrofasciata* em Pernambuco (Lucena & Magalhães Netto 1939, Lucena 1940) e na Guiana Francesa (Floch & Lajudie, 1942), mas segundo Dias & Campos Seabra a identificação do parasito está sujeita a dúvida e parece provável tratar-se de formas de evolução do *Trypanosoma conorrhini,* cuja presença naquela ocasião não era conhecida no Ocidente.

Em outra localidade do município de Nazaré, Longá, foi feita uma captura de *Panstrongylus megistus,* dos quais 20 que chegaram vivos à Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz estavam infectados por *Schizotrypanum* na percentagem de 20 %. Inoculações em cobaia e camondongo branco foram positivas.

Aproveitando a oportunidade desta publicação, assinalaremos que, graças à boa vontade de diversos pesquisadores, nosso serviço no Instituto Oswaldo Cruz já recebeu triatomídeos das espécies *T. rubrofasciata* e *P. megistus* das seguintes localidades pernambucanas.

ESPECIE	MUNICPIO	LOCALIDADE	REMETENTE
P. megistus	Aliança	Upatininga	Osvaldo Neves
P. megistus	Barreiro	Engenho Muitas Cabras	Geth Jansen
P. megistus	Catende	Jaqueira	Geth Jansen
P. megistus	Nazaré	Engenho Salgado	Osvaldo Neves
P. megistus	Nazaré	Longá	Osvaldo Neves
P. megistus	Timbaúba	Engenho Boa Vista	Durval Lucena
T. rubrofasciata	Nazaré	Engenho Salgado	Osvaldo Neves
T. rubrofasciata	Nazaré	Longá	Osvaldo Neves
T. rubrofasciata	Recife	Recife	Bezerra Coutinho

A lista das espécies conhecidas no Estado de Pernambuco, segundo Neiva & Lent (1941) é a seguinte: *Triatoma brasiliensis, T. maculata, T. melanocephala, T. rubrofasciata* e *T. sordida; Panstrongylus megistus; Psammolestes coreodes.*

SUMÁRIO

Os autores identificam a presença de um *Schizotrypanum* no intestino de *Triatoma rubrofasciata* no Estado de Pernambuco, tendo encontrado também *Panstrongylus megistus* infectados.

SUMMARY

The writers report natural infection of *Triatoma rubrofasciata* and *Panstrongylus megistus* by *Schizotrypanum* in the State of Pernambuco, Brazil.

AGRADECIMENTOS

Os autores manifestam seu reconhecimento a todos os que colaboraram na execução dêste trabalho pela remessa de material e de informações sôbre os transmissores da doença de Chagas em Pernambuco.

REFERÊNCIAS

Dias, E.

1942. Apêlo aos clínicos do interior para a colaboração no estudo da doença de Chagas. O Hospital 21 (6) : 921-926.

Dias, E & Campos Seabra, C. A.

1943. Sôbre o *Trypanosoma conorrhini*, hemoparasito do rato transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata*. Presença do vector infectado na cidade do Rio de Janeiro. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 39 (3) : 301-328.

Floch, H. & Lajudie, P. de

1942. *Cabassus lugubris* et *Didelphis cancrivora* naturellement infectés par *S. cruzi* en Guyane Française. *Triatoma rubrofasciata* vecteur naturel. Inst. Pasteur Guyane Fr. Terr. Inini 45 : 1-4.

Lucena, D.

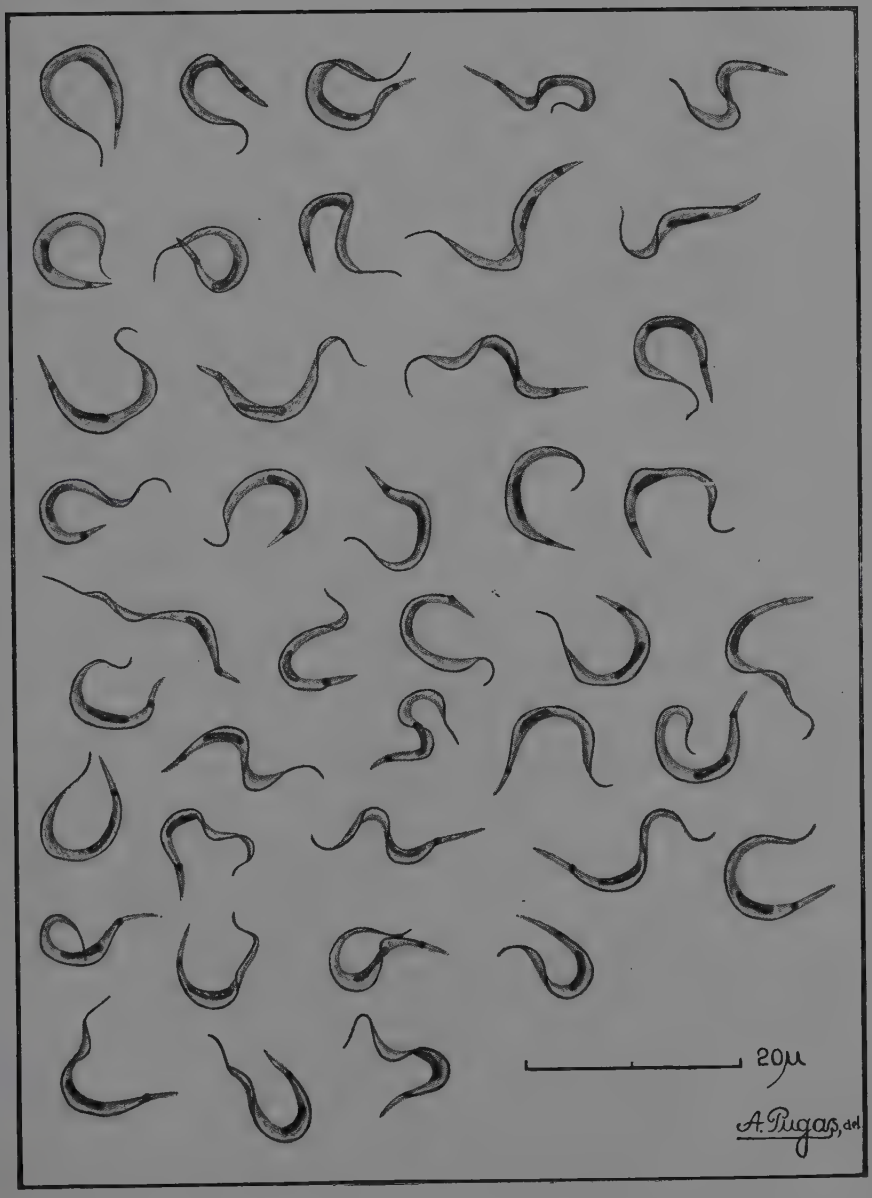
1940. Infecção natural do *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) pelo Trypanosoma cruzi Chagas 1909. O Hospital 18 (1) : 91-93.

Lucena, D. & Magalhães Netto, B.

1939. Infecção natural de *Triatoma rubrofasciata* pelo *Trypanosoma cruzi*. Rev. Assoc. Paulista Med. 15 (2) : 177.

ESTAMPA 1

Formas metacíclicas de *Schizotrypanum* do intestino posterior de *Triatoma rubrofasciata* de Nazaré, Pernambuco. Álcool absoluto, Giemsa.



Dias, E. & Neves, O. — Schizotrypanum em T. rubrofasciata

Observações sôbre o combate à Esquistosomose humana em Pernambuco, no município de Catende

Índice de infestação em Austraorbis e emprêgo da cal extinta e do sulfato de cobre no combate aos moluscos (*)

por

Geth Jansen

(Com 14 figuras no texto)

No começo de julho p.p. fomos designado pelo Diretor do I.O.C., Dr. H. de Beaurepaire Rohan Aragão, para realizar um inquérito em Catende, Estado de Pernambuco, e alí verificar a percentagem de infestação dos moluscos do gênero *Australorbis* pela cercaria do *S. mansoni* e também fazer experiências sôbre a destruição dêsses moluscos pelo emprêgo da cal e do sulfato de cobre.

Êste trabalho foi realizado pela Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, chefiada pelo Dr. Aristides Marques da Cunha e em cooperação com a Divisão de Organização Sanitária do Departamento Nacional de Saúde.

Durante a nossa permanência em Catende, tivemos oportunidade de examinar 2.631 *Australorbis centimetralis,* com os seguintes resultados:

	Examinados	*Positivos*	*Percentagem*
Represa dos Escoteiros	45	0	0
Rio Pirangí (Engodo)	97	0	0
Rio Pirangí (entre a ponte do comércio e a usina hidroelétrica)	55	5	9,09%
Rio Pirangí (entre a ponte do comércio e a usina hidroelétrica)	148	1	0,67%
Rio Pirangí (entre a ponte do comércio e a usina hidroelétrica)	172	3	1,74%
Rio Pirangí (entre Ouricuri e Pau d'óleo)	280	1	0,30%
Rio Panelas (Rua da Linha)	160	8	5,00%
Rio Panelas (Bomba da piscina)	130	0	0
Rio Panelas (Bomba da piscina)	120	3	2,50%
Rio Panelas (entre a ponte do matadouro e confluência com o rio Pirangí)	123	5	4,06%

* Recebido para publicação a 13 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

Rio Panelas (Matadouro)	74	0	0
Vala de irrigação (água da represa V. 8)	110	0	0
Açude Desertor	813	150	18,45%
Açude da Great Western (Palmares)	304	41	13,48%
Total dos exames do Rio Pirangí	752	10	1,32%
Total dos exames do Rio Panelas	607	16	2,63%

Pelo exame dêsses dados é fácil verificar que a infestação é muito maior nos açudes do que nos rios, fato explicável pela quietude das águas e ausência de correntes, as quais possibilitam, sempre, uma dispersão maior das cercarias. Acresce ainda a circunstância, que merece ser considerada, ou seja uma contínua poluïção das águas pelo despêjo de fezes nos açudes.

Entretanto, não só os rios e açudes constituem focos de infestação de *Schistosoma,* mas é preciso incluir também os canaviais que são irrigados na época da estiagem. Esta irrigação é feita com água de reprêsas que se abastecem nos rios, e destas a água é lançada então em valas que percorrem os canaviais, segundo um plano destinado a levar-lhes a umidade de que necessitam, para uma produção regular. Nessas valas de irrigação os moluscos encontram ambiente propício ao seu desenvolvimento, tanto assim que alí encontrámos grande número de *Australorbis* que, subindo do rio para as reprêsas, através as bombas de sucção, são mais tarde distribuídos às mesmas. Se tivermos em mente que, cerca de 8.000 homens trabalham nos canaviais da Usina Catende, é fácil compreender a importância que deve ser dada a êsse sistema de irrigação como provável meio de infestação.

Os locais da coleta de material foram escolhidos tendo em vista a maior densidade da população que os frequenta, quer para banhos ou lavagem de roupa, quer para extração de areia para construção, pescarias, e outras atividades que põem o indivíduo em condições de se infestar pelas cercarias.

No rio Panelas, como principal foco de infestação, existe um aglomerado de casas, formado pelas chamadas ruas da Linha e do Rio. A maioria destas casas não possue fossas sanitárias ou qualquer outra aparelhagem, ainda que a mais rudimentar, de modo que as fezes são lançadas diretamente no rio.

Pelos exames de fezes, feitos no Pôsto de Combate à Esquistosomose, até a data do nosso regresso a esta Capital, havia sido assinalada uma infestação de mais de 50 % dos moradores da rua da Linha.

Deve notar-se que, nesse mesmo trecho, pela facilidade de acesso ao rio (as casas são construídas literalmente à beira dágua) e numa população que em sua totalidade é constituída de gente sem recursos, as mulheres dedicam-se ao mister de lavagem de roupa.

Fig. 1 — Trecho do rio Panelas proximo à rua da Linha.
Fig. 2 — Banho de um menor no rio Pirangí.

E' verdade que existem dois chafarizes na cidade, entretanto em virtude da distância em que se encontram, o transporte da água se torna difícil e trabalhoso, tanto que a mesma é vendida em latas aos moradores que podem pagar. Não é êste o caso da maioria da população, constituída de gente pobre e que acha mais fácil e econômico banhar-se no rio.

Existe uma caixa dágua para abastecimento da cidade, porém não é muito melhor a situação dos que se servem dessa água pois na própria caixa verificamos a presença de *Australorbis*. E isto acontece porque a mesma representa, apenas, um depósito de nível mais elevado, para distribuïção do líquido, sem qualquer medida de beneficiamento dêste. Assim é que, tivemos oportunidade de colher alguns exemplares de *Australorbis* na torneira da cozinha de uma das casas da cidade. (Figs. 3 e 4).

Fig. 3 — Caixa d'água da cidade, onde foram encontrados *Australorbis*.
Fig. 4 — Aspecto da zona ribeirinha da cidade de Catende.

Se bem que a possibilidade de infestação pela água saída da torneira ou chuveiro, seja mais ou menos remota, não se pode deixar de levá-la em conta e, para corroborar essa asserção, deve ser referido o fato de havermos encontrado duas pessoas infestadas, as quais não obstante declararam jamais haver tomado banho no rio.

A população do Município é estimada em 20.000 pessoas. Pensamos que talvez mais da metade esteja sujeita à reinfestações constantes, visto que, além do hábito dos moradores pobres edificarem as casas à beira-rio, visando

Fig. 5 — Extração de areia no rio Panelas.
Fig. 6 — Lavagem de roupa e utensílios no rio Panelas.

as facilidades que êste lhes oferece, há ainda a acrescentar as infestações nas valas de irrigação dos canaviais. Contribuem também para a infestação, o pequeno comércio de peixe, camarão e a extração da areia do leito dos rios, a qual é vendida para as construções em Catende.

Ao lado dessas observações fizemos várias experiências para verificar a ação da cal e do sulfato de cobre sôbre os moluscos, cujos protocolos transcrevemos a seguir.

As experiências com cal foram realizadas, segundo a técnica preconizada por GEORGE W. LUTTERMOSER do Instituto de Higiene de Caracas (Venezuela).

1.ª *experiência*

Em um trecho do Rio Pirangí (Barragem da Hidro-Elétrica), usamos 350 quilos de cal que foram distribuídos pelas margens.

Figs. 7-8 — Aplicação da cal.

Para êsse fim, a cal era atirada na água por meio de pás, procurando espalhá-la até a distância de um metro a metro e meio da margem. (figs. 7 e 8)

Entretanto, a época para essas experiências não era das mais propícias, visto que estávamos no inverno, ou época das chuvas, e os rios se apresentavam aumentados de volume. Os remansos naturais, nos quais ocorre maior número de *Australorbis* em outras épocas e onde a solução de cal poderia exercer ação mais persistente, haviam desaparecido.

Fig. 9 — Aplicação da cal na represa V 8.

Fig. 10 — Caixa usada para controle de eficiência no combate aos *Australorbis*.

Ainda por causa das chuvas se tornava difícil observar os moluscos, mais freqüentes no fundo do rio, visto que a água barrenta e carregada de detritos impedia essa observação.

Para de certo modo contornar essas dificuldades, mandámos fazer 20 caixas teladas medindo 10 x 10 x 4 cms, no interior de cada qual colocámos 20 *Australorbis*. Usámos nesta experiência um total de 400 moluscos; as caixas, presas por um fio, foram distribuídas por vários pontos do rio, no trecho em que iria ser feita a aplicação da cal.

Ao fim de 24 horas, recolhemos as caixas para verificar os efeitos da aplicação feita e obtivemos um resultado, que, dadas as condições acima descritas, ainda assim pode ser considerado aceitável pois que 30 % dos *Australorbis* estavam mortos.

Acreditamos que na época da estiagem, a aplicação dêste método nos rios proporcionará resultados muito melhores, tomando em consideração a menor correnteza, o menor volume de água e a existência de remansos muito numerosos (figs. 9 e 10).

2.ª *experiência*

A segunda experiência foi feita em uma das represas destinadas a irrigação dos canaviais.

Construída de cimento armado, e alimentada pelo Rio Pirangí, por meio de possante bomba elétrica, tem capacidade para 8.000 metros cúbicos sendo contudo, a menor das represas existentes na Usina.

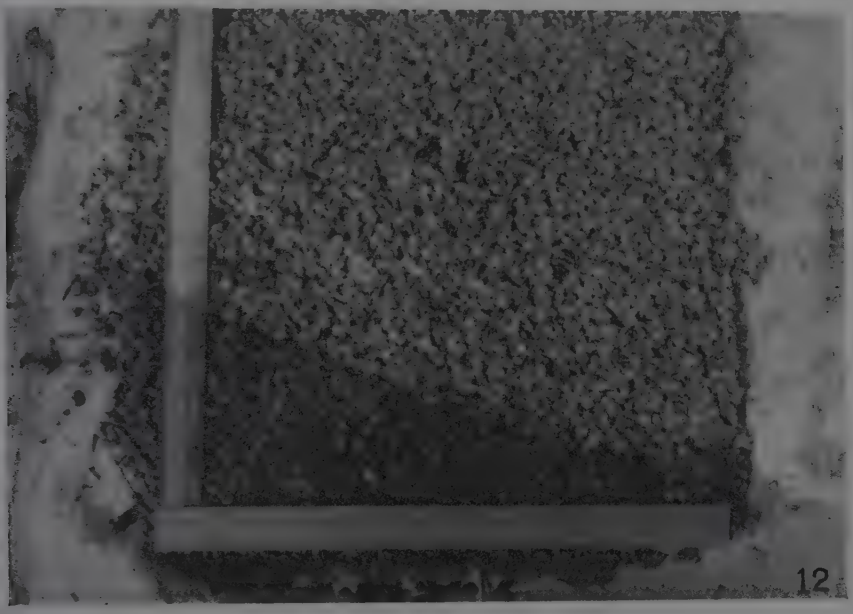
Para a realização da nossa experiência, foi bombeada água do rio até perfazer 300.000 litros. A seguir espalhámos nessa represa 1.600 quilos de cal o que vem a dar um teor de pouco mais de 5 o/oo. Usámos 5 o/oo ao em vez de 4 o/oo que é o título eficaz, em virtude da chuva que caía incessantemente nesses dias, visando, por êsse modo, evitar um enfraquecimento da solução.

Cinco dias depois da aplicação da cal, colhemos apenas em uma hora, grande quantidade de *Australorbis* mortos, que pesaram 980 grs. Não encontrámos um só *Australorbis* vivo.

Foi portanto de 100 % a eficácia da cal em solução próxima de 5 o/oo (figs. 11 e 12).

3.ª *experiência*

A terceira experiência foi realizada em três valas de irrigação cuja largura média é de cerca de 80 cms, nas quais os *Australorbis* eram encontrados em abundância.

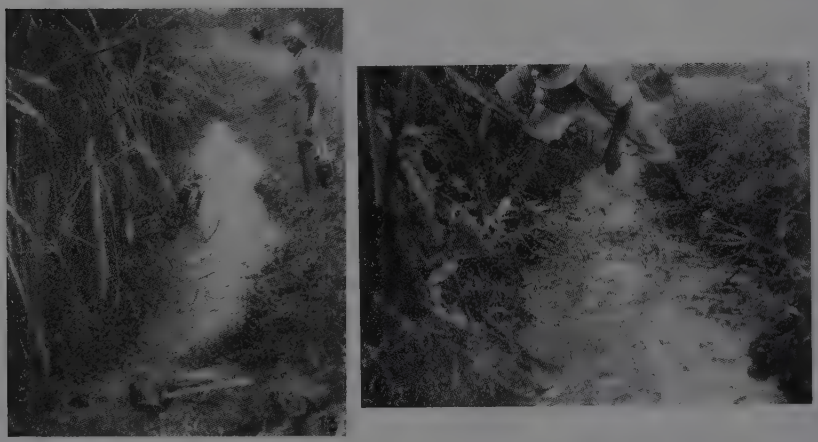


Figs. 11-12 — *Australorbis* mortos pela cal (2.ª experiência).

Essas valas, na época da experiência, estavam quase sem água e apenas uma faixa delgada, de 10 cms de largura corria pelo centro, propiciando condições de vida aos moluscos.

Fizémos três tipos de solução: 10 o/oo — 8 o/oo — 4 o/oo.

Num trecho de 50 metros, espalhámos as soluções com irrigadores da seguinte maneira: na primeira, onde havia um volume dágua maior, usámos a solução a 10 o/oo; na segunda, ainda com água corrente, porém em menor quantidade, usámos a solução a 8 o/oo em irrigação e na terceira, fizémos represar as extremidades, aplicando a solução a 4 o/oo. (figs. 13 e 14).



Figs. 13-14 — Valas de irrigação do canavial onde foi feita a 3.ª experiência.

Dois dias após, procedemos à verificação dos resultados e constatamos que, nas três valas escolhidas, os *Australorbis* se achavam todos mortos. À vista dêsses resultados, anotámos 100 % para a eficácia da cal nas soluções usadas. A morte dos moluscos era verificada, colocando-os em água pura onde permaneciam pelo espaço de 24 horas.

Experiência com sulfato de cobre

Usámos o sulfato de cobre sòmente em valas de irrigação, porque dispúnhamos no momento de uma quantidade muito reduzida dêsse sal.

Se bem que, pelas experiências feitas nos Estados Unidos e Venezuela, e posteriormente por nós em laboratório, antes de nossa viagem a Catende

tivéssemos verificado que a solução a 0,1 o/oo tinha sido letal para *Australorbis*, uma experiência dessa natureza nos rios de Catende, cuja largura num percurso de mais de 8 K, (trecho compreendido a montante e jusante da cidade), é de seis metros em média seria necessário, mesmo escolhendo um trecho relativamente pequeno, uma grande quantidade de sulfato de cobre. Acresce ainda que o custo mais elevado dessa substância em comparação com a cal não nos pareceu desprezível.

Escolhemos, como anteriormente haviamos feito para as experiências com a cal, três valas de irrigação onde existiam *Australorbis*.

Num trecho de 50 metros na primeira vala aplicámos com irrigadores uma solução de sulfato de cobre a 0,5 o/oo. Na segunda, na mesma extensão da primeira, aplicámos uma solução a 1 o/oo e, finalmente, na terceira, uma solução a 2 o/oo.

Procedendo à verificação dos resultados, 48 horas depois, os dados encontrados foram os seguintes: 18 % de *Australorbis* mortos na primeira (sol. 0,5 o/oo); 43 % na segunda (sol. a 0,1 o/oo) e 100 % na terceira (soluto a 2 o/oo).

Conclusões

Diante dos resultados alcançados nas experiências acima relatadas, verificámos que o combate aos *Australorbis* pela cal oferece inúmeras vantagens, de modo a torná-lo aconselhável na prática.

Estas vantagens são assim resumidas :

a) com uma quantidade relativamente pequena de cal, ou seja 4 a 5 o/oo, é possível obter o extermínio total dêsses moluscos;

b) o preço da cal é de 25 a 30 centavos o quilo;

c) não prejudica ou antes beneficia os canaviais, porque neutraliza a acidez do terreno segundo afirmação do Dr. Brito Passos, técnico da Usina Catende;

d) é material de fácil aquisição, uma vez que até mesmo em Catende pode ser adquirido;

e) não se dissolve completamente na água, depositando-se em camadas no fundo do rio, indo atingir diretamente os *Australorbis*, que, consoante observamos, não ficam agarrados às plantas marginais dos rios mas no

fundo, onde encontram melhores condições de subsistência. E' fácil verificar êste fato, quando as águas estão suficiêntemente claras.

O sulfato de cobre, pelo seu preço elevado (CR$ 8,40 o quilo, seriam necessários, apesar do título da solução, milhares de quilos para o combate aos moluscos) e por ser material de importação, é desaconselhado na presente situação.

Acresce ainda a circunstância de que a sua maior solubilidade, até certo ponto, contraindica o seu emprêgo nos rios onde a correnteza dágua não permite uma ação duradoura sôbre os declives do leito, justamente onde se encontram os moluscos em maior número.

Acreditamos, entretanto, que, embora a cal se mostre eficaz no combate aos *Australorbis* não o seja de molde a resolver o problema do combate ao hospedador intermediário do *S. mansoni* no local estudado, porque, em ambos os rios que banham Catende, êsses moluscos existem talvez desde as suas nascentes, e o fato de serem exterminados os exemplares locais, não importa na destruïção total, visto que as desovas, as pequenas larvas e mesmo os adultos conduzidos pela correnteza viriam constituir, em pouco tempo, uma nova população de moluscos. Entretanto como fator subsidiário à profilaxia da esquistosomose, é muito indicado o seu emprêgo.

Nos açudes e caixas dágua da cidade, onde o líquido é captado dos rios, por meio de bombas, fàcilmente pode ser impedida a entrada dos *Australorbis*: para isto bastará a colocação de ralos finos ou filtros na entrada dos tubos adutores, ou, o que seria mais radical no caso das caixas dágua o tratamento do líquido fornecido à população.

Quanto aos *Australorbis* já existentes nos açudes, o tratamento da água pela cal na percentagem de 4 o/oo resolve completamente o problema, como ficou demonstrado.

Restariam ainda os rios e valas de irrigação. Nos primeiros, a aplicação da cal seria feita em época da estiagem, quando o volume dágua é menor e as condições gerais mais propícias à eficácia da ação da cal.

Esta deve ser espalhada das margens para o centro do rio numa faixa de cerca de metro e meio de largura, trabalho que pode ser feito por intermédio de pás.

Nas valas de irrigação será melhor fazer as soluções e utilizar irrigadores e bem assim um outro processo, que nos parece interessante, é o recomendado por G. W. Luttermoser ou seja a colocação de sacos de cal à montante no início das valas de maneira que a água tivesse que atravessá-los e nessa ocasião fôsse dissolvendo a cal.

Desejamos agradecer aqui, o apôio que sempre tivemos de parte dos Srs. Dr. MELCHIADES MONTENEGRO, Prefeito Municipal, e dos dirigentes e funcionários da Usina Catende, os quais nos foram de muito auxílio no desempenho da nossa missão.

RESUMO

O A. apresenta os resultados do inquérito realizado no Município de Catendo, Estado de Pernambuco, afim de verificar o índice de infestação de moluscos do gênero *Australorbis*, pelas cercarias de *Schistosoma mansoni*, e experimentar a ação da cal extinta e do sulfato de cobre como recursos para a erradicação dêsses moluscos.

O alto índice de infestação do homem, pelo *Schistosoma mansoni* (50% em mais de 300 exames) deve-se ao contacto frequente da população com a água dos rios, para banhos e outros misteres.

A cal extinta dá melhores resultados que o sulfato de cobre; além disso oferece vantagens de preço e facilidade de aquisição.

Empregou-se a solução de cal de 4 a 5 %.

SUMMARY

Investigations were made in Catende, State of Pernambuco, in order to establish the incidence of infected snails of the genus *Australorbis*, by cercariae of *Schistosoma mansoni*, and to test slacked lime and copper sulfate as eradicators of these snails.

The high incidence of human infestation by *Schistosoma mansoni* (50% in more than 300 examinations) is due to the constant use of the rivers, by the population for bathing and other purposes.

It was found that slacked lime gives better results than copper sulfate and is also cheaper and more easily obtained.

The dilution of lime used was 4 to 5%.

BIBLIOGRAFIA

LUTTERMOSER, G. W.

1941. Destruccion de caracoles transmissores de *Schistosoma mansoni* en Venezuela. Rev. de Sanidad y Asistencia Soc. 6 (6) : 874-897, 10 figs.

LUTTERMOSER, G. W.

1943. Destruccion de caracoles transmissores de *Schistosoma mansoni* en Venezuela. Rev. de Sanidad y Asistencia Soc. 8 (1) : 3-44, 4 figs.

Preparo de Antígenos (Leprolinas Souza-Araujo) de culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de leprosos

Seu emprêgo intradérmico, comparativamente com o da Lepromina, e subcutâneo ou intravenoso como tentativa terapêutica

pelo

Dr. H. C de Souza-Araujo

(Com cinco figuras intercaladas no texto)

Introdução.

Em trabalho anterior, que publiquei em 1937 nestas Memórias (1), dei a técnica do preparo de antígenos de culturas de bacilos ácido-alcool resistentes de procedência leprosa, e os resultados do seu uso intradérmico. Cheguei a empregar dez culturas diferentes, das quais sete figuram nos Catálogos do *Lister Institute,* de Londres e da *American Type Culture Collection,* de Washington, nenhuma, porém, era original minha. Nestes últimos três anos tendo obtido várias culturas originais, semeando material leproso (2) ou semeando sedimentos de ixodídeos (3) e triatomídeos (4) infectados em leprosos, culturas essas puras, de bacilos ou cocobacilos com as propriedades de resistência aos ácidos minerais, ao álcool e à acetôna, fortes e permanentes, e de morfologia idêntica à do bacilo de HANSEN proveniente de lesões cutâneas flóridas ou de linfa sub-cutânea de leprosos, resolvi preparar com elas novas séries de antígenos, que por analogia com o de ROST (5) denominei de LEPROLINAS. Tratando-se de culturas originais e os produtos sendo da minha exclusiva responsabilidade científica, decidí designá-los *"Leprolinas Souza-Araujo"*, cujos números correspondem aos números das culturas com que foram preparados, e que entraram para a *American Type Culture Collection* com a denominação de *Leprosy Cultures Souza-Araujo* I, II, III, etc.

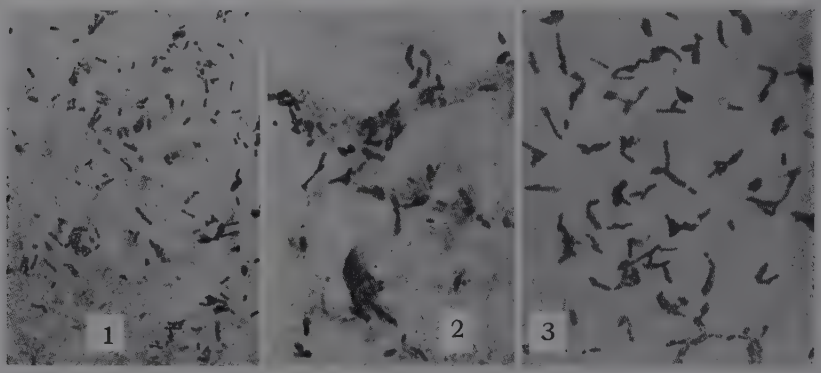
Das minhas seis culturas originais então sobreviventes (hoje são em maior número), sòmente quatro produzem véus cobrindo tôda a superfície de 100 c.c. de caldo glicerinado a 5 %, colocados em balões ERLENMEYER de capacidade de 200 c.c. e mediante uma permanência longa (um a três mêses) na estufa a 37.° C. As outras duas culturas (amostras "Ramtun" e "José Carlos") produzem véus imperfeitos e insuficientes para o fabrico

* Recebido para publicação a 16 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

de regular quantidade de antígenos. Além das seis culturas originais tenho duas rétroculturas (1a e 1b) obtidas de lesões de cobaia e de rato branco que foram inoculados por mim com a cultura N.º 1 (amostra "José"), as quais também produzem véus iguais ao da original.

Técnica adotada no fabrico das Leprolinas

Estando provado que a melhor *Lepromina* é a preparada com emulsão total de lepromas floridos, estirpados sem pele, e mais rica em bacilos de HANSEN, consultei ao Dr. ASTROGILDO MACHADO, um dos maiores técnicos em bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz, sôbre uma técnica pela qual eu



Microfotografias *J. Pinto*.
Aspecto microscópico das Leprolinas 1 (Fig. 1), 1a (Fig. 2) e nº 5 (Fig. 3).

conseguisse aproveitar a massa total dos bacilos das minhas culturas e os seus produtos. Êle me aconselhou como a mais conveniente a da homogenização da cultura total, por agitação elétrica durante 10 dias e 10 noites, sem cessar, após adicionar nela ácido fênico liquefeito na proporção de 0,5% sôbre o seu volume atual. Obtida essa emulsão e verificada a sua esterilidade, por meio de semeaduras nos meios apropriados, bastaria diluí-la em água fenicada a 0,5 %, na proporção de 10 para 100 e distribuí-la, assèticamente, em empolas. Essa técnica me deu bons resultados, cumprindo-me agora agradecer ao Dr. A. MACHADO a sua valiosa colaboração e o interêsse que vem tomando pelas minhas pesquisas.

A primeira partida de *Leprolina* fabricada foi a de N.º 5, proveniente da cultura obtida do leproso paranaense *Rudan*, mediante trituração e se-

meadura de carrapatos (*Boophilus microplus*) nele infectados. Tratava-se duma cultura de três mêses, em caldo glicerinado a 5%, proveniente de repicagem de outra já bem desenvolvida em meio de LOEWENSTEIN. A operação teve a seguinte marcha :

1) aos 120 cc de caldo, com denso depósito e completo véu rugoso, de pigmentação amarelada, adicionei 0,60 cc de ácido fênico liquefeito e agitei o balão, vigorosamente. Deixei-o na geladeira durante 24 horas;

2) a 20 de abril, passei o conteúdo total do balão para um frasco azul, de capacidade de 600 cc, com 50,0 gramas de pérolas de porcelana esterilisadas;

3) mandei colocar êste frasco no agitador elétrico, onde permaneceu, sob constante agitação, durante 10 dias e 10 noites;

4) a 30 de abril foi o frasco retirado do agitador. A cultura, completamente homogenizada, apresentava o aspecto de água leitosa pingada com chocolate;

5) dessa emulsão semeei, com uma pipeta estirada, algumas gotas em meio de LOEWENSTEIN e em caldo e agar glicerinados a 5 %. Após cinco dias de incubação a 37° C. verifiquei ausência de qualquer germinação;

6) diluí essa emulsão em água fenicada a 0,5% na proporção de 10 para 100 centímetros cúbicos. A figura n. 3 mostra o aspecto microscópico dessa emulsão, cuja turbidez tinha o aspecto de água fracamente leitosa;

7) mandei distribuir, asséticamente, o total da emulsão em empôlas de dois centímetros cúbicos, correspondentes a vinte doses intradérmicas.

Verificação da inocuidade da Leprolina N.° 5.

Conservei o produto na geladeira durante as primeiras provas de sua inocuïdade, que foram feitas no meu consultório pelo Dr. JOIR FONTE, primeiro em dez doentes e em seguida em dez dos seus comunicantes mais íntimos. A 13 de maio, remeti ao Dr. SALOMÃO SCHUJMAN, de Rosário (Argentina), para atender um seu pedido, 50 cc, dessa *Leprolina* e igual quantidade ao Dr. JOSÉ MARIANO. Do uso feito por aquele colega ainda não tive nenhuma notícia; êste último empregou-a em 198 doentes da Colônia Santa Fé, de Três Corações. Os resultados dessa aplicação, concomitântemente com o da *Lepromina*, figuram num artigo do Dr. MARIANO aparecido na Acta Medica, vol. 11 (10-12) pág. 147, Out.-Dez. de 1943. Êste colega consultou-me sôbre o emprêgo dêsse produto por via intravenosa, como ensaio terapêutico em leprosos. Respondí-lhe que o fizesse primeiramente por via subcutânea..

No dia 6 de agôsto terminei o preparo e distribuição de mais cinco partidas de *Leprolinas*: N.os 1 (cultura "José"), 1a (rétrocultura de cobaia), 3 (cultura "Teixeira"), 5 e 5a (duas novas partidas da cultura "Rudan") e a 16 do mesmo mês seguí para Três Corações, onde, com a colaboração do Dr. MARIANO, apliquei êsses cinco antígenos, concomitântemente com a *Lepromina* (tipo HAYASHI), em 120 internados da Colonia Santa Fé. Durante dez dias acompanhei o Dr. MARIANO nas verificações dos resultados do emprego de tais produtos, não tendo observado nenhum sintoma alarmante. Os resultados das leituras finais dessas reações serão o assunto de um próximo artigo do Dr. JOSÉ MARIANO.

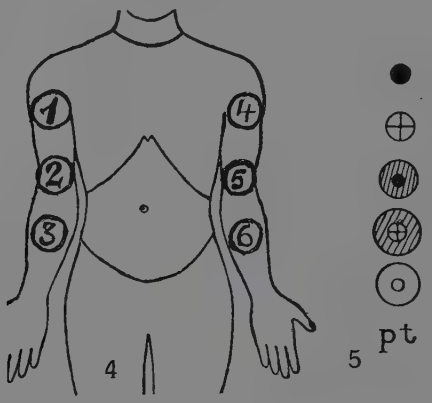


Fig. 4 — Indicação das sédes convenientes das intradermoreações com as Leprolinas (1 a 5) e com a Lepromina (6). Fig. 5 — Sinais convencionais para a anotação dos vários graus das reações positivas, até à perda de tecido.

Distribuïção das Leprolinas a vários leprosários.

Verificados a inocuïdade das *Leprolinas* e o seu efeito mais ou menos idêntico ao da *Lepromina*, em testes cutâneos, com uma circular e um gráfico explicativo sôbre o seu emprêgo remetí, a 17 de setembro, a cada um dos leprosários abaixo relacionados 50 empôlas das *Leprolinas* 1, 1a, 3, 5 e 5a, correspondentes a 20 cc, de cada, ou seja o suficiente para as intradermo-reações em 200 doentes ou comunicantes :

1 — Leprosário Belisário Penna, Manáos, Amazonas.
2 — Leprosário Marituba, Belém, Pará.
3 — Lazarópolis do Prata, João Pessôa, Pará.
4 — Colônia do Bomfim, S. Luiz, Maranhão.

5 — Colônia Mirueira, Recife, Pernambuco.
6 — Colônia S. Francisco de Assís, Bambuy, Minas Gerais.
7 — Colônia Santa Isabel, Belo Horizonte, Minas Gerais.
8 — Asilo-Colônia Santo Ângelo, Santo Ângelo, S. Paulo.
9 — Asilo-Colônia Pirapitinguy, Itú, S. Paulo.
10 — Asilo-Colônia Aymorés, Baurú, S. Paulo.
11 — Asilo-Colônia Cocáis, Casa Branca, S. Paulo.
12 — Sanatório Padre Bento, Gopoúva, S. Paulo.
13 — Leprosário São Roque, Piraquára, Paraná.
14 — Colônia Santa Tereza, Florianópolis, Santa Catarina.
15 — Colônia Itapuan, Pôrto Alegre, R. G. do Sul.

Remeti também 30 empôlas das *Leprolinas* 1, 3 e 5, sendo 10 de cada, ao Sr. PERRY BURGESS, Presidente da *Leonard Wood Memorial*, de New York, para fins de estudos. A 6 de outubro, remeti aos grandes leprosários da Colômbia *Água de Dios* e *Lazareto de Contratación* uma partida das cinco Leprolinas, num total de mais de 100 empôlas, para ensaios.

Incluindo as Colônias de Santa Fé e de Itanhenga êsses produtos estão sendo ensaiados em 17 leprosários nacionais e dois da Colômbia. Se os resultados finais dêsses ensaios forem favoráveis a um ou mais desses produtos, fabricarei grandes partidas estandardizadas dos mais eficazes para distribuïção gratuita a todos os grandes centros de combate à lepra do mundo.

Posteriormente preparei o antigeno 2 (da cultura 2, amostra "Alcebiades"), de todos o mais cromogênico e cuja emulsão não me agradou, entretanto o estou ensaiando, por via intradermica, nalguns doentes.

Ensaios sorológicos e terapêuticos com as Leprolinas.

O Dr. THIERS PINTO aceitou a incumbência, gentilmente, de experimentar as minhas *Leprolinas* como antígenos em reações sôrológicas com sangue de leprosos e suspeitos, para o que lhe fornecí a quantidade necessária. Entretanto, devido a sua ausência do Rio, em viagem de estudo para confecção de tese para concurso de Livre-Docência, talvez essa prova ainda demore, saivo se outros colegas que também disponham de laboratório de análises desejem prestar essa valiosa cooperação. O Prof. LUIS PRADO BARRIENTOS de La Paz, Bolivia, vai fazer também essa prova sorológica, além de outras.

Na Colônia Santa Fé injectei, por via subcutânea, em lesões leprosas de A. R., em dias alternados, de 2 a 4 cc da Leprolina n. 1, como tentativa terapêutica. Êsse produto deu origem a uma intensa reação local e geral, sem sintoma alarmante. Aquí no Rio estou empregando, pela mesma via,

nalguns doentes com lesões rebeldes, as Leprolinas N.os 1 e 5, sempre com reação local e geral dignas de estudo, em maior escala, para o que ponho à disposição dos meus colegas quantidades suficientes do produto para experiência nesse sentido. O curioso é que, passada a reação, os doentes começam a ver resultados que lhes parecem espetaculares... De minha parte ainda não tenho firmada uma avaliação de tal proveito.

O Dr. José Mariano está empregando, por via intravenosa, nalguns leprosos, algumas dessas Leprolinas, com reação febril até 40° C e outros sintomas que lhe parecem muito importantes, os quais prometeu apreciar futuramente. Diz esse colega que os antigenos N.os 1 e 5, usados sob a forma de infiltrações intradémicas, têm dado excelentes resultados em lesões do tipo tuberculoide.

SUMMARY

PREPARATION OF ANTIGENS (LEPROLINS SOUZA-ARAUJO) FROM CULTURES OF ACIDFAST BACILLI ISOLATED FROM LEPERS.

Its use intracutaneous, comparatively with Lepromin, and subcutaneous or intravenously as therapeutics.

The A. prepared five antigens from his leprosy cultures which by analogy with Rost's product he called Leprolins. The methods of its preparation and use are given. After a few tests to prove its innocuity for man the A. in cooperation with Dr. José Mariano, injected all five antigens intracutaneously in 120 patients. Now the products are being tested in 17 Leper Colonies of Brazil, in Argentina by Dr. Salomon Schujman and in two leprosaria of Colombia. As antigen for skin tests the first results obtained are more or less identical with the results with Lepromin.

Its use in serology for leprosy diagnosis will be made by Dr. T. Pinto, of Rio, and Prof. Luiz Prado Barrientos, of La Paz, Bolivia.

As curative means the Leprolins are being injected into resistent lesions of leprosy and also by intraven injections, whose results Dr. José Mariano will publish soon. The Leprolins Souza-Araujo are put at disposal of all leprologists interested in its use.

BIBLIOGRAFIA

1. Souza-Araujo, H. C. de

1937. Intradermo-reacções em leprosos com antigenos de culturas de bacilos ácido-álcool resistentes.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 32 (4) : 469-497.

2. Souza-Araujo, H. C. de

1942. Cultura cromogênica dum bacilo ácido-álcool resistente isolado de pus de lesão fechada de lepra humana.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 37 (1) : 29-34.

3. Souza-Araujo, H. C. de e Miranda, Ruy Noronha.

1942. Poderá o carrapato transmitir a lepra ? 3.ª Nota.
Mais quatro amostras de culturas de bacilos ácido-álcool reesistentes obtidas de carrapatos (duas de Amblyomma cajennense e duas de Boophilus microplus) infectados em leprosos do Paraná.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 37 (3): 391-425.
Cruz, T. 37 (3) : 391-425.

4. Souza-Araujo, H. C. de

1943. Infecção espontânea e experimental de Hematófagos (Ixodídeos, Triatomídeos, Culicídeos, Hirudíneos, Pediculídeos e Cimicídeos) em leprosos.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 38 (3) : 447-484.

5. Rost, E. R.

1905. The Preparation of Leprolin.
British Medical Journal, February 11, pág. 294.

Adenocarcinoma cístico hemorrágico da glândula mamária de camondongo

pelos

Drs. Jónio F. de Salles e Hermínio Linhares

(Com duas figuras no texto)

As doenças espontâneas em animais, têm sempre muito interêsse, levando-se em conta, não raro, servirem elas para esclarecer processos ocorrentes no homem.

Os tumores malignos de camondongos, pelo seu acentuado valor no estudo comparativo e sobretudo, no que concerne à experimentação da doença, têm uma grande significação e os menores detalhes devem ser ventilados.

Os tumores malignos podem se localizar nas diferentes partes do corpo do animal; podem ser únicos ou multiplos; têm estrutura atípica e origem independente (CLOUDMAN). A respeito de evolução escreve ainda este autor, os tumores chegam a ter grandes dimensões e os animais vão apresentando uma progressiva e acentuada perda de pêso, desnutrição, estado de absoluta fraquesa, eriçamento dos pêlos, cifóse e por fim a morte.

Na grande maioria das vêzes, os tumores malignos do camondongo possuem caracteres distintos, havendo contudo algumas formas que mostram grande semelhança com as que ocorrem no homem.

O primeiro trabalho sôbre tumor de camondongo foi feito por MOREAU (6) em 1894 que conseguiu transplantar um adenocarcinoma e fazer mesmo várias passagens. JENSEN (4) trabalhando com camondongos brancos, chegou à conclusão de que, nas implantações, o que proliferava era o tecido blastomatoso e não o tecido do animal inoculado. Muitos outros trabalhos se seguiram o êste. Assim, MC CAMPBELL (5) apresentou um estudo detalhado sôbre um adenocarcinoma cístico espontâneo de camondongo; já anteriormente BASHFORD e MURRAY (1) haviam publicado um interesante trabalho sôbre carcinoma mamário em camondongo. GARDNER e col. (3) descreveram seis pequenos adenocarcinomas com metástases nos ovários

Williams e col. (7) fizeram uma importante observação verificando que a melhor idade para o aparecimento de tumores era o décimo primeiro mês de vida do camondongo.

Durante o exame de cerca de 7.000 camondongos brancos, suíços, da criação do Instituto Oswaldo Cruz, nos foi possivel selecionar cinco dêstes animais com tumores espontâneos. Êstes eram de vários tamanhos e estavam localizados em diversas partes do corpo. Dois deles estavam situados na parte ventrolateral do pescoço; um na perna posterior esquerda e dois no abdome.

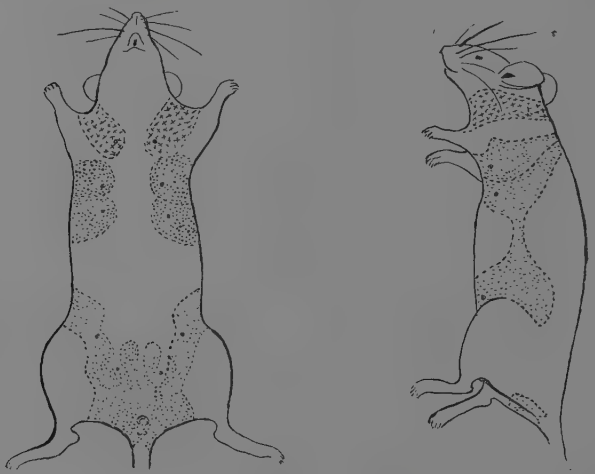


Fig. 1 — Diagrama mostrando a extensão máxima do sistema mamário de camondongo. Os pontos negros maiores representam o bico das mamas e as áreas pontilhadas as glândulas mamárias (segundo Cloudman). O desenho em cruz mostra a localização do tumôr por nós observado.

Sacrificados os animais com éter, foram feitas as necrópsias afim de se obter material para o exame histopatológico. Quatro dos tumores, eram constituídos por material purulento e o quinto por tecido branco amarelado e friável. Foram feitas semeaduras visando isolar o possivel germe produtor destas lesões, mas os resultados foram negativos.

Um dos tumores, situados na parte látero-ventral esquerda de um dos animais, nos fez pensar em um blastoma da glândula sub-maxilar ou então sub-lingual, tal a sua localização; após exame minuncioso, nos foi permitido chegar ao diagnóstico de tumores da glândula mamária, tendo nos auxiliado para a localização, o diagrama de Cloudman (2) que transcrevemos.

As glândulas mamárias no camondongo consistem geralmente de cinco pares de glândulas, ocupando a parte lateral e ventral do corpo desde o pescoço até o ânus. Na região escápulo-humeral, os ácinos glandulares se estendem em torno do corpo na frente e atrás dos membros anteriores. Na região inguinal, estendem-se ao longo da crista do íleo e na parte interna da coxa.

Aumento: 210 vezes.
Fig. 2 — Aspecto do tumor. Células dispostas em cordões contornando os cistos hemorrágicos.

Ao exame microscópico, verificamos tratar-se de um blastoma, atípico, com estrutura epitelial, formado por células em sua maioria cilíndricas, com citoplasma róseo e os núcleos de variados tamanhos e via de regra, hipercromáticos. As células se dispoem em cordões, normalmente providos de uma luz, dando ao tumor um aspecto acinoso.

Contornadas pela massa infiltrante tumoral, são vistas numerosas áreas hemorrágicas, formando verdadeiros cistos.

SUMMARY

The A. A. have observed a hemorrhagic cyst-adenocarninoma of the mammary gland of mouse. This malignant tumor shows atipical, it is composed almost entirely of large cuboidal epithelial cells, which possess eosinophilic cytoplasm and generally hyperchromatic nuclei. There is a acinouslike structure. One can find many hemorrhagic areas, which form cyst-like blood filled spaces.

BIBLIOGRAFIA

1. Bashford, E. F. e Murray, J. A.

   1907. Carcinoma mammae in mouse. Lancet, 1 : 798-803.

2. Cloudman, A. M.

   1941. Spontaneous neoplasms in mice. No livro : Biology of the laboratory mouse, by the Staff of the Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory.

3. Gardner, W. V., Strong, L. C. e Smith, G. M.

   1936. Observation of primary tumors of the pituitary, ovaries an mammary glands in a mouse. Am. J. Cancer, 26 : 541-546.

4. Jensen, C. O.

   1903. Experimentelle Untersuchungen über Krebs bei Mäusen. Centralb. f. Bact., 34 : 28-34 e 122-143.

5. Mc Campbell, E. F.

   1909. Malignant tumors in mice with a report of a spontaneous adeno-carcinoma in a house mouse (Mus musculus). J. Med. Res., 15 : 261-273.

6. Moreau, H.

   1893. Recherches experimentales sur la transmissibilité de certains neoplasmes. Arch. de Med. exper. et d'anat. pat., 6 : 677-705.

7. Williams, A. C., Silcox, L. E. e Halpert, B.

   1935. Carcinoma of the mammary gland in an inbred stock of albins mice. Am. J. Cancer, 24 : 823-830.

Estudos sôbre óleos do fígado de cação

Desmobrânquios da família **Sphyrnidae,** Mir. Rib., gêneros **Carcharias,** Raf., **Galeocerdo,** Ranz., e **Odontaspis,** Shau.

por

Humberto T. Cardoso

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F. — Brasil

A grande procura dos óleos de fígado de cação foi determinada pela atual guerra e, nos Estados Unidos de América, sua indústria se desenvolveu grandemente, relacionada à produção em alta escala de vitamina A.

Entre nós tambem se fêz sentir essa procura, embora já há alguns anos, se tivesse iniciado no País, a produção dêsses óleos, em pequenas proporções, com organizações industriais rudimentares e sem contrôle técnico.

Por outro lado, a carência do óleo de fígado de bacalhau levou-nos a tentar a sua substituição pelo óleo de fígado de cação, mas logo surgiram os casos entre compradores e fabricantes, pelo desconhecimento das características técnicas que deveriam ser apresentadas por êsses óleos. Até á data presente, ainda não foram dissipadas tôdas as dúvidas a respeito das verdadeiras propriedades dos óleos de fígado de cação e os produtores não possuem elementos técnicos suficientes para garantirem, não só os métodos de preparação como também a riqueza vitamínica do produto elaborado.

Tornava-se, pois, necessária uma investigação da possibilidade real da substituição do óleo de fígado de bacalhau pelo de cação, afim de colhêr os dados necessários para a padronização da sua qualidade, analítica e tecnologicamente.

A bibliografia do assunto é bem grande, principalmente a estrangeira, encontrando-se muitos trabalhos sôbre a ocorrência da vitamina A nesses óleos, porém, poucos utilizaram um grupo razoável de exemplares, de modo a permitir uma conclusão mais segura sôbre as variações dessa riqueza vitamínica.

Entre nós, Hermesdorff e Peckolt, (5) orientaram-se no mesmo sentido, procurando determinar nos nossos peixes os extremos dessa ocur-

* Recebido para publicação a 23 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

rência. Não foram muitos os exemplares estudados nesse trabalho, em cada espécie ou gênero, porém os resultados obtidos já demonstravam o grande valor do aproveitamento dêsses peixes para uma indústria nacional de grande futuro. As determinações da vitamina A, feitas por êsses autores, com o tintômetro de Lovibond, aparelho então indicado para êsse fim, não nos permitiam comparação com as que modernamente são conhecidas, tôdas expressas em unidades internacionais por grama de óleo, uma vez que a conversão das unidades azues Lovibond nestas era muito controvertida.

Outro aspecto importante, que merecia cuidadosa investigação, era o da tecnologia dêsses óleos, pois, frequentemente se criticavam os métodos então usados, alegando os competidores uma destruição completa das vitaminas pela manipulação então usada.

Assim, esta nossa investigação foi iniciada com o propósito de esclarecer os pontos duvidosos, aproveitando o material excelente que nos era proporcionado pela Escola de Pesca Darcy Vargas, na Ilha da Marambaia, Estado do Rio, cuja secção industrial cuida do aproveitamento de todo o pescado obtido, com o ensinamento da pesca ao seus alunos. O volume de cações em uma mesma zona marítima sendo muito grande, com as condições de vida sempre semelhantes, podia permitir melhores conclusões sôbre a variação das reservas vitamínicas, relacionada às espécies dos peixes ou outros quaisquer fatores que permanecessem variaveis.

I — DOSAGEM DA VITAMINA A

Das dificuldades iniciais que encontrámos para sistematização do nosso trabalho, a da dosagem da vitamina A era a que se apresentava imediatamente e, assim, procurámos escolher, entre os métodos então conhecidos para êsse fim, os que satisfizessem duas condições principais: precisão nas determinações, e facilidade de operação, para que fôsse possível operar com grande número de amostras diariamente.

A técnica que adotámos depois de todos os ensaios parece-nos a mais indicada, utilizando um aparelho de preço accessível, de fácil manêjo e, sobretudo, de consumo de reagente muito reduzido.

As técnicas de dosagem da vitamina A são sempre baseadas em uma das seguintes propriedades: a absorção máxima das radiações de 328 mμ ou a formação de um composto azul instavel com o AsC13 ou SbC13. Entretanto os métodos para se efetuarem essas dosagens são os mais variados, distinguindo-se, apenas, pela maior ou menor das medidas.

Ultimamente, com o desenvolvimento dos fotômetros fotoelétricos para a parte visível e ultravioleta do espectro solar, tem-se procurado utilizá-los.

afim de reduzir as causas de êrro devidas às leituras, que devem ser rápidas, no caso da reação de Carr e Price.

Os principais inconvenientes e vantagens dos métodos de dosagem da vitamina A, em óleos de peixe, podem ser resumidos no seguinte: o método de absorção no invisível (328 mμ) seria o melhor quanto à precisão e rapidez das medidas, porém, tem a seu descrédito dois fatores: um, é o do elevado custo dos aparelhos e seus acessórios e o segundo, devido à discussão em tôrno do fator da Liga das Nações, para a absorção específica da vitamina A, $E\ {}^{1\%}_{1cm} = 1.600$, que, segundo Holmes & Colbert, (6), deveria ser de valor 2.000 determinado espectroscópicamente, e, segundo Mc Farlan et al., (8), de 2.270 pelo método fotoelétrico, ambos a 328 mμ.

Outros autores indicam a retirada do insaponificavel para a dosagem, afim de se evitarem certas interferências, mas isto torna ainda menos praticável o uso do método pelas usinas industriais ou laboratórios de grande movimento, pois, requerem cuidados muito especiais, como atmosferas inertes nas operações e solventes isentos de peróxidos.

Os métodos baseados na reação do SbC13 são, por sua vez, imprecisos, pois o composto azul que se forma não segue a lei de Beer e decompõe-se muito rapidamente, atingindo o máximo de intensidade em dez segundos.

Entretanto, por êste método, se pode operar diretamente com os óleos em natureza e com qualquer riqueza vitamínica, apesar das restrições feitas por Emmerie, (4), que recomenda a retirada do insaponificável, para a dosagem de óleos de teores inferiores a 10.000 U. I./g., afirmando que certos triglicerídeos não saturados interferem com reação com o SbC/3. Esta interferência não tem sido comprovada e a maioria dos autores que o sucederam não têm atribuído importância a essa observação.

Para tornar praticável êsse método, para trabalhos em grande escala, nos centros produtores e refinadores de óleos de fígado de peixes, seria necessário encontrar meios para: *a*) fazer a leitura rápidamente e sempre com o mesmo tempo, dentro do praso de 10". Isto só pode ser conseguido com aparelhos dotados de célula fotoelétrica, pois, o ôlho humano carece de uma velocidade de adaptação suficiente para a medida e, mesmo com a maior prática, sempre permite erros significativos; *b*) trabalhar com cubas pequenas, para a maior economia dos reativos, levando em conta o número excèssivo de amostras a serem analisadas diáriamente.

O método de Dann & Evelyn, (3), desenvolvido e examinado com Koen & Sherman, (7) em comparação com os métodos biológicos, mostrou-se o mais eficiente entre os que haviam sido divulgados até esta data e, só podiam

ser apresentados como inconvenientes, o custo elevado, entre nós, do colorímetro de Evelyn, e o uso de 10 ml. de reagente, em cada operação.

Procurando contornar estas duas últimas dificuldades, encontrámos um aparelho que satisfaz as necessidades momentâneas das indústrias de óleos de peixe e laboratórios de contrôle. Trata-se do colorímetro fotoelétrico de Leitz, destinado a laboratórios clínicos, de custo aproximadamente 50 % menor do que o de Evelyn, podendo trabalhar com 60 % menos de reagente em relação ao método de Dann & Evelyn.

O aparelho, por sua construção especial, permite uma grande estabilidade da corrente, quando ligado á rêde comum da luz e tem grande vantagem de não exigir qualquer padrão para ajustagem, em cada determinação. Traça-se uma curva padrão, com óleo de referência, dosado biológicamente e, nestas condições, se poderá obter diretamente, com a leitura no galvanômetro, a riqueza vitamínica do óleo examinado.

Com o jôgo de filtros espectrais que acompanham o aparelho, é fornecido um filtro vermelho de número 244, de transparência entre 600 e 700 mμ. No nosso caso, necessitámos de um filtro localizado na zona de transparência máxima de 620 mμ correspondente ao máximo de absorção do composto azul da vitamina A.

Êste novo filtro foi preparado com gelatina corada entre lâminas de vidro, tendo-se escolhido o corante Vermelho Complementar D, Agfa, cuja curva típica de transmissão apresentou máximo muito nítido e próximo do ponto desejado. Essa curva aparece no gráfico 1.

As características dêsse filtro são as seguintes: transmissão de 98 % com o filtro S61, no fotômetro gradual de PULFRICH, cuja transparência máxima é de 620 mμ.

As cubas fornecidas com o aparelho têm capacidade para 10 ml, mas a quantidade útil de líquido é ligeiramente superior a 4.0 ml. Assim, para evitar uma reflexão na superfície do líquido, quando o volume é de 4.5 ml., achámos conveniente a proteção, por papel ou tinta negra, da parte superior da cuba. Para isto, tomámos na cuba um volume de 4.5 ml. de água e revestimos a mesma, a partir da parte inferior do menisco, com papel negro de fotografia.

O reativo foi preparado de acôrdo com as normas conhecidas e considerando as observações de DANN & EVELYN, em apôio às de CARR & PRICE, (2), quanto à pureza e concentração do mesmo. Assim, usámos a concentração de 22.5 % para a solução de SbC13 em clorofórmio, tendo-se secado êste último com Na2SO4 anhidro, para melhor conservação do reativo.

A dosagem é praticada do seguinte modo: a amostra de óleo é pesada e dissolvida em clorofórmio, de modo a se obterem soluções a 1% para os óleos de teores acima de 5.000 U. I. g. e de 2 a 20% para os mais pobres. Nos casos de produtos muitos ricos em vitaminas A, a solução inicial deverá ser diluída até que se obtenham leituras na zona média da escala do galvanômetro. O gráfico (2) para a leitura das riquezas vitamínicas está construído com soluções a 1%. Quaisquer resultados com concentrações acima ou abaixo dessa deverão ser divididos ou multiplicados pelos respectivos múltiplos.

TABELA I

Resultados obtidos com o "VOGAN" no colorímetro fotoelétrico

C %	E_{1cm}	U. I.
0.35	0.552	25.665
0.30	0.523	21.999
0.25	0.495	18.332
0.20	0.432	14.666
0.15	0.347	10.999
0.10	0.244	7.333
0.05	0.125	3.666

A técnica de operação é a seguinte: o aparelho é regulado, colocando-se na cuba 4.5 ml. do reagente puro, estando interposto o filtro espectral, aguardando-se três minutos após a ligação da lâmpada, para completo aquecimento do filamento, quando, então, se fará com que a agulha do galvanômetro corresponda à divisão 100 da escala.

A cuba com o reagente puro é, então, substituída por uma outra vasia, onde se irá proceder à medida, com a solução da amostra em exame. Diretamente no aparelho, medem-se 0.4 ml. da solução do óleo na cuba, a seguir três gotas de anhidrido acético e, finalmente, 4,0 ml. do reativo. Esta adição deverá ser feita por meio de bureta ou pipeta da precisão, porém de escoamento rápido, para permitir uma agitação da mistura e uma homogenização imediata da côr formada.

As operações anteriores são feitas com a lâmpada ligada e, assim, depois de dois segundos de oscilação, o ponteiro para, anotando-se então a divisão da escala sôbre a qual se estabilizou. Com esta técnica, é possível obter uma sucessão de resultados constantes, com a mesma amostra.

GRÁFICO 1

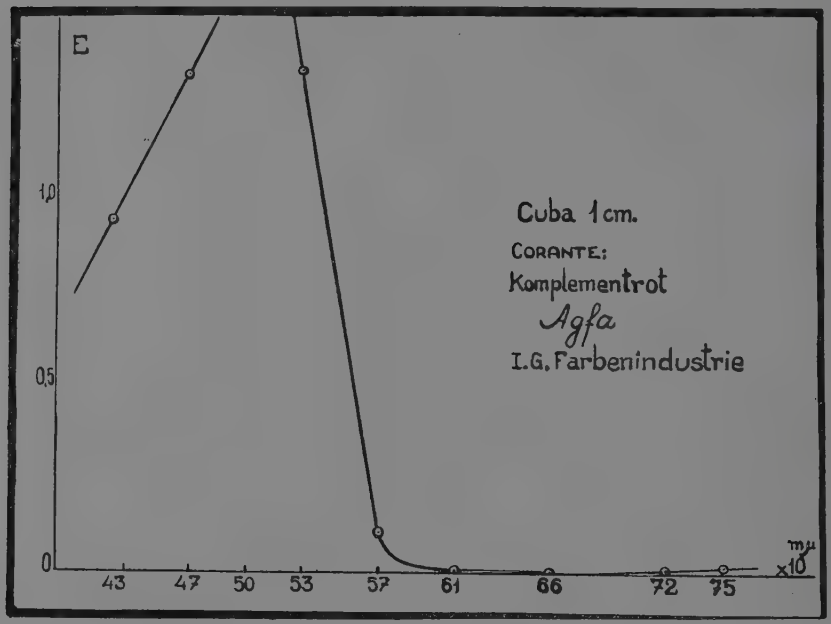


GRÁFICO 2

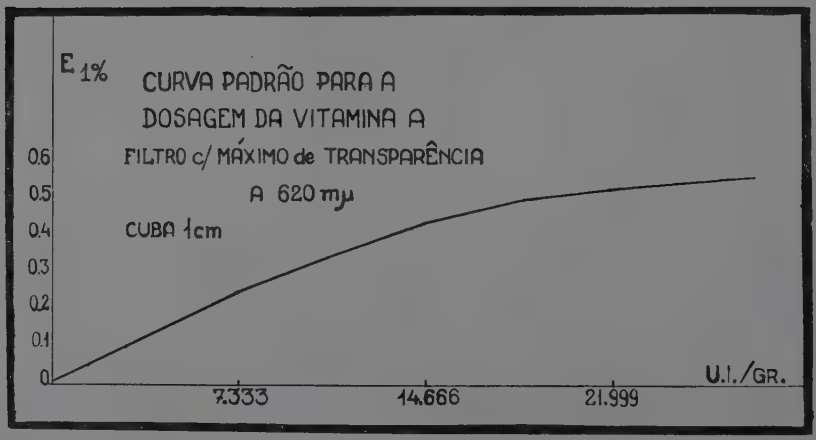


TABELA 2

CORRESPONDÊNCIA ENTRE AS LEITURAS NO GALVANÔMETRO E O TEOR EM VITAMINA A

MEDIDA NA ESCALA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20									25.665	23.763
30	21.999	20.164	18.332	17.575	16.619	16.082	15.364	14.666	14.148	13.674
40	13.199	12.725	12.293	11.868	11.459	10.939	10.643	10.322	10.003	9.632
50	9.338	9.041	8.753	8.472	8.187	7.902	7.618	7.333	7.115	6.869
60	6.653	6.438	6.222	6.006	6.791	5.575	5.390	5.175	4.930	4.774
70	4.590	4.405	4.220	4.035	3.850	3.666				

A curva padrão que apresentamos no gráfico 2 foi obtida com várias diluïções do produto "VOGAN", dosado espectrofotomètricamente a 328 mμ e controlado biològicamente no nível de 73.000 U. I./g.

Na tabela 1 aparecem essas diluïções e os dados obtidos no aparelho, e, na tabela 2, a correspondência entre a leitura na escala do aparelho e o número de unidades internacionais por grama de óleo, quando a concentração da amostra é de 1%.

II — Ocorrência da Vitamina A nas várias espécies estudadas na zona circunvizinha da Ilha da MARAMBAIA

Como já dissemos, muitos autores estrangeiros têm dedicado trabalhos ao estudo da variação do teor vitamínico do óleo de fígado de cação. Essa variação tem sido assinalada como sendo muito grande, e, dado o pequeno número de exemplares estudados, algumas vêzes se terá concluído errôneamente sôbre as propriedades biológicas de determinadas espécies. Por outro lado, é de grande interêsse o conhecimento das relações existentes entre essa riqueza vitamínica e certos fatores, para orientação, não só dos pescadores como também para o estudo da biologia desses peixes.

Essa orientação levou-nos a sistematizar a coleta dos exemplares durante um ano, loteando-os diàriamente e por suas diferentes espécies. Os resultados que conseguimos obter, depois desse período, já fornecem dados interessantes para conclusões e, pelo menos nessa zona, sabemos quais os indivíduos que interessam mais à usina preparadora de óleo de fígado de cação.

O método aquí adotado não pertubou o rítmo industrial do aproveitamento do pescado, ao contrário, auxiliou-o muito, e dêsse modo pode ser indicado para a reprodução de inquéritos semelhantes em outros pontos do litoral brasileiro.

Os valores médios que serão expostos não indicam que as riquezas em vitamina A oscilam pouco ao seu redor. As oscilações observadas são de grandes amplitudes, muitas vêzes, dentro de um mesmo cardume.

Como foi dito antes, todos os exemplares capturados eram loteados diàriamente e agrupados por espécies, sendo a média das dosagens do dia o valor atribuído ao lote correspondente.

Outra observação que se faz, imediatamente, no exame dos quadros que apresentamos, é o da irregularidade da ocorrência de certas espécies, como o cação Galha-preta, *C. limbatus*. Do cação Anequim só colhemos três amostras, em um ano.

O método empregado para a pesca determinou, de certo modo, uma maior frequência de dadas espécies, pois os aparelhos usados exigem certas profundidades ou qualidade de iscas apropriadas.

A rede caçoeira é um aparêlho que trabalha, de preferência, nas enseadas, por exigir pequena profundidade. Com êste método, notou-se uma maior frequência de certas espécies e, principalmente, de exemplares do sexo feminino. Isto parece ser devido à procura de zonas mais tranquilas para a procriação. Não fica excluída, entretanto, a captura de exemplares machos, de espécies variáveis, que entram nas enseadas, perseguindo cardumes de sardinhas ou outros peixes.

Sob o ponto de vista da pesca para industrialização do óleo de fígado dos peixes, este método deixa muito a desejar, seja pelo fato de que os exemplares do sexo feminino, após o parto, e os seus filhos dão óleos de teores sempre muito baixos, como também, pela possibilidade de se exterminarem as espécies, pela pesca intensiva que ora se processa.

O espinhel, ao contrário, é um aparêlho fácil de lançar em qualquer ponto do mar e os tamanhos e qualidades dos exemplares ficam condicionados a alguns fatores já conhecidos. Assim, quanto maiores forem os anzóis e iscas respectivas, tanto maiores serão os exemplares capturados, eliminando-se assim a matança dos indivíduos novos. Outro fator que merece atenção é a isca que se usa: nota-se que as iscas ditas brancas atraem espécies menos vorazes, como os cações da família *Sphyrnidae* (martelo, cambeba, etc.), enquanto que as iscas sanguíneas, como a carne de bôto ou de bonito, são preferidas por espécies como a *Galeocerdo maculatus* (tintureira), cuja voracidade já é proverbial.

Dêste modo, o espinhel, a-pesar-de ser um aparêlho de menor rendimento em volume de pescado, é o de mais eficiência para a indústria do óleo, pois, geralmente, os exemplares capturados são maiores e frequentemente machos, sendo em ambos os casos, por essas razões, mais ricos em vitamina A.

A influência do sexo fica evidenciada pelos quadros que expomos a seguir e confirma a opinião que é geralmente admitida.

A estação do ano em que se procede a captura não parece ter influência decisiva sobre o teor vitamínico, pelo menos, das espécies que ocorrem durante todo o ano. O que parece suceder é que as demais espécies emigram de seus pesqueiros habituais e vêm a ser colhidas acidentalmente, como no nosso caso, dentro das enseadas, onde procuraram tranquilidade para a procriação. Nessas condições, os teores baixos encontrados, conseqüentes dos estados particulares da vida dos peixes, como fêmeas em gestação ou filhos novos, puderam ser confundidos com um efeito decorrente da estação do ano,

Nestas condições, a época influïria sòmente sôbre a qualidade das espécies encontradas, cujos valores médios são variáveis.

O aumento dos pesos dos fígados e do óleo contido nos mesmos, decorrente das estações do ano, também não pôde ser comprovado pelo exame do material que obtivemos para estudo.

A alimentação normal das espécies é que parece ter decisiva influência sôbre a reserva vitamínica, conforme se poderá ver mais adiante. Ainda nesta suposição, se encontra uma explicação para a observação feita no parágrafo anterior, referente ao aumento do volume de matéria gorda, nos fígados dos cações. Assim, com a estação realmente variam, numa mesma região, as espécies dos outros peixes que servem de alimento dos cações, bem como certos cetáceos ricos em gorduras, que então poderão ser mais freqüentes. A ingestão mais elevada desses novos alimentos, durante essa época, pode determinar o aparecimento de maior quantidade do óleo armazenado nos fígados dos cações e, conseqüentemente, uma diminuïção do teor vitamínico dos mesmos, simplesmente por uma diluïção. Mas isto não quer dizer que a estação é a responsável por essa alteração e, como prova indiscutível disto, se poderá mencionar o fato de que as espécies que se alimentam sòmente de moluscos ou peixes pequenos, de carne branca (pescadinha, etc.), não apresentam quaisquer variações, nessas ocasiões.

Deve-se notar, ainda, no exame dos quadros que apresentamos, que, em uma mesma espécie e num mesmo lote, se poderão encontrar resultados bem diferentes, o que faz lembrar que essa reserva deve estar condicionada diretamente à natureza da alimentação adventícia dêsses peixes.

Mas, de uma maneira definitiva, a observação dos resultados expostos leva à conclusão de que, realmente, existem espécies e, mesmo, gêneros, cuja média de reserva vitamínica seja mais elevada que em outras.

Reforça essa impressão o fato de que os valores mais elevados que encontramos, num ano de trabalho, foram de exemplares machos, grandes, captu-

rados dentro da enseada, quando perseguiam cardumes de sardinhas. Pensamos, pois, que essa excepcional riqueza, nunca mencionada antes na literatura científica, para êsses peixes, deve ser atribuída ao fato de se os ter surpreendido pouco tempo após a ingestão de grandes quantidades do alimento fortemente vitaminado.

A espécie mais pobre dentre as estudadas, a Tintureira, *G. maculatus*, é exatamente a mais voraz, atacando normalmente os peixes maiores e, mesmo, os cações de certo porte, os cetáceos, como os botos e até tartarugas grandes.

Os resultados conseguidos com os cações do gênero *Sphyrna*, cuja média em vitamina A é a maior entre as espécies estudadas, vêm trazer um bom apoio à orientação anterior. Sendo cações tidos como mansos, alimentando-se pràticamente de crustáceos, as oscilações encontradas nunca foram excessivas ou, pelo menos, da ordem das observadas com as outras espécies. O teor médio foi normalmente elevado e, sobretudo, o rendimento em óleo foi sempre pequeno e menor do que em qualquer outra espécie estudada.

EXAME DAS TABELAS

Tabelas de 3 a 14 — Teor médio de vitamina A, expresso em unidades internacionais, obtidas nos vários lotes dos diferentes mêses e durante um ano.

A razão que nos levou a distribuir pelos diferentes mêses os dados correspondentes obtidos, foi a de procurar demonstrar, não só a possível influência da estação do ano, como também o desaparecimento de determinadas espécies, periòdicamente.

O valor atribuído a cada lote representa o valor vitamínico de uma amostra média dos exemplares colhidos no dia.

Quando coexistiam os dois sexos, cada lote era constituído por um dos sexos.

Sendo o primeiro ano de pesca sistematizada na Escola, utilizando sòmente um dos barcos pequenos, o número de lotes colhidos não foi grande. Nos anos subseqüentes, continuar-se-á o inquérito e, já agora, com outros barcos no trabalho da pesca. Deste modo, maior número de exemplares será colhido e talvez novas observações surjam.

Entretanto, o presente trabalho repousa sôbre dados colhidos de 3.085 exemplares.

Na tabela 15, resumimos os dados dessas tabelas mensais e alí se constatarão melhor as variações encontradas.

Ressalta a supremacia generalizada dos exemplares machos sôbre os femininos, em relação à reserva vitamínica.

As diferenças notadas são enormes e, como indicamos antes, as médias obtidas para cada lote não as mostram suficientemente claras. Variam os teores de indivíduos para indivíduos, desde alguns pràticamente sem vitamina até outros excepcionalmente ricos. Entretanto, mesmo os mais pobres são geralmente do mesmo nivel que o dos bons óleos de fígado de bacalhau.

Procuramos ainda relacionar a riqueza em vitamina A com os tamanhos dos peixes. Nenhuma ligação foi observada, como se poderá deduzir do exame dos dados da tabela 16, representado no gráfico 4. Si, em um caso, o tamanho médio era grande, ao mesmo tempo que a riqueza vitamínica, como no caso do *Carcharias. lamia,* os teores mais baixos que encontramos correspondem exatamente aos peixes de tamanho médio mais elevado.

Só resta a conclusão de que a alimentação adventícia seja o fator preponderante nessas altas e baixas verificadas, de vez que a influência da época não pode ser comprovada mediante os dados colhidos.

TABELA 3

Abril — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAR		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	11.875		1.200	—	5.275	—	1.000	—	9.091	—	—	—
2	—	—	1.000	—	—	—	3.370					
3	—	—	—	—	—	—	1.200					
4	—	—	—	—	—	—	1.000					
MÉDIAS	11.875	—	1.100	—	5.275	—	1.642	—	9.091			
MÉDIAS P/ESPÉCIE	11.875		1.100		5.275		1.642		9.091		—	

TABELA 4

Maio — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	—	12.077	1.000	—	4.100	—	850	—	—	30.070		
MÉDIAS	—	12.077	1.000	—	4.100	—	850	—	—	30.070		
MÉDIAS P/ESPÉCIE	12.077		1.000		4.100		850		30.070			

Junho — 42

TABELA 5

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	—	11.430	1.000	1.320	—	15.364	—	—	—	28.297	—	19.248
2	—	53.724	—	12.077								
3	—	26.400										
4	—	47.536										
5	—	27.822										
MÉDIAS	—	33.382	1.000	6.698	—	15.364	—	—	—	28.297	—	19.248
MÉDIAS P/ESPÉCIE	33.382		3.849		15.365				28.297		19.248	

Julho — 42

TABELA 6

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	6.553	167.712	2.000	4.754	—	—	2.000	7.617	—	39.962	20.164	26.600
2	11.862	32.124	—	—	—	—	10.643	—	—	23.768	22.883	20.164
3							49.344	—	—	33.638	—	13.674
4									—	37.032		
5									—	24.716		
MÉDIAS	9.207	99.918	2.000	4.754	..	..	20.662	7.618	—	31.823	21.523	20.146
MÉDIAS P/ESPÉCIE	54.562		3.377		—		14.140		31.823		20.834	

Agôsto — 42

TABELA 7

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	12.725	—	—	—	—	—	1.000	—	—	16.062	4.035	9.682
2											4.590	8.472
3											9.041	4.035
4											4.035	8.187
5											4.590	4.590
6											8.187	4.590
7											8.472	8.187
MÉDIAS	12.725	—	—	—	—	—	1.000	—	—	16.062	6.135	6.227
MÉDIAS P/ESPÉCIE	12.725		—		—		1.000		16.062		6.181	

TABELA 8

Setembro — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	15.364	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.175	6.438
2	4.590										12.293	6.050
3	3.850										6.653	6.653
4	58.000										29.332	4.400
5	1.400										15.364	7.755
MÉDIAS	16.640	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13.763	6.258
MÉDIAS P/ESPÉCIE	16.640		—		—		—		—		10.011	

TABELA 9

Outubro — 42

LOTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	7.618										12.900	5.900
2	23.768											4.220
3	3.668											
4	13.436											
5	43.400											
6	16.819											
7	1.415											
MÉDIAS	15.732	—	—	—	—	—					12.900	5.060
MÉDIAS P/ESPÉCIE	15.732		—		—						8.980	

TABELA 10

Novembro — 42

LUTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	7.067	—	5.175	100					32.000	41.400		
2	10.150									31.000		
3										20.164		
4										14.148		
5										50.000		
6										30.000		
7										35.150		
8										15.400		
9										87.996		
10										64.000		
11										14.666		
MÉDIAS	8.608	—	5.175	100					32.000	36.720		
MÉDIAS P/ESPÉCIE	8.608		2.637						34.360			

TABELA 11

Dezembro — 42

LUTES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	50.800	50.800	600	—						47.536	13.000	5.791
2	—	3.000	6.869							64.248		
3										67.276		
MÉDIAS	50.800	26.900	3.734							59.686	13.000	5.791
MÉDIAS P/ESPÉCIE	38.850		3.734		—				59.686		9.395	

Janeiro — 43

TABELA 12

	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	61.456	61.456							14.148	16.400	4.035	
2	14.148	40.000								34.000		
3	5.400									35.000		
4	23.768											
5	8.472											
6	6.222											
7	11.430											
9	8.472											
9	36.000											
MÉDIAS	19.485	50.728							14.148	28.466	4.035	—
MÉDIAS P/ESPÉCIE	35.106								21.307		4.035	

Fevereiro — 43

TABELA 13

	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	15.364	40.000	9.041									
2	9.365	7.115										
3	7.115											
4	6.653											
5	11.900											
MÉDIAS	10.079	23.557	9.041	—								
MÉDIAS P/ESPÉCIE	16.818		9.041		—							

Março — 43

TABELA 14

	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1	5.575		800	2.000								
2	3.850											
MÉDIAS	4.712		800	2.000								
MÉDIAS P/ESPÉCIE	4.712		1.400									

TABELA 15

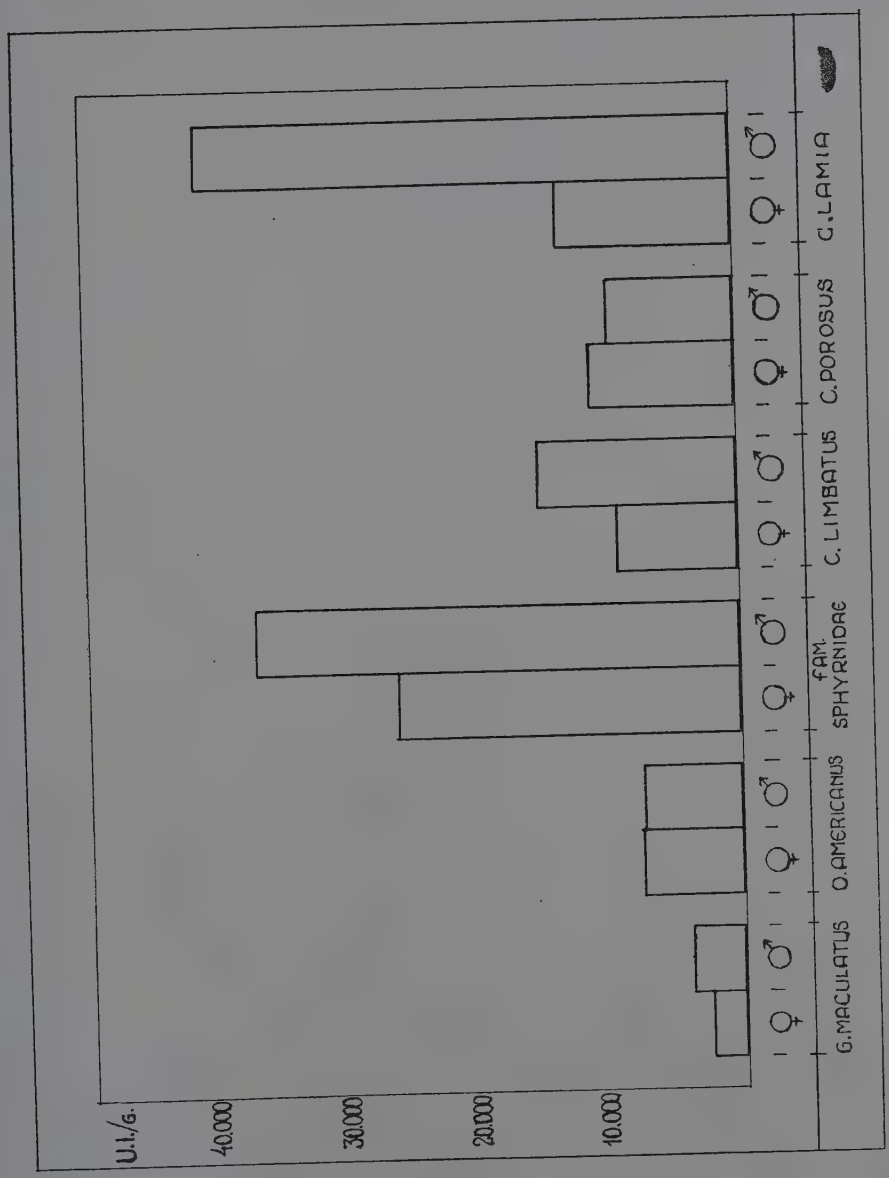
Resumo das tabelas mensais, com os teores médios por sexos e por espécies

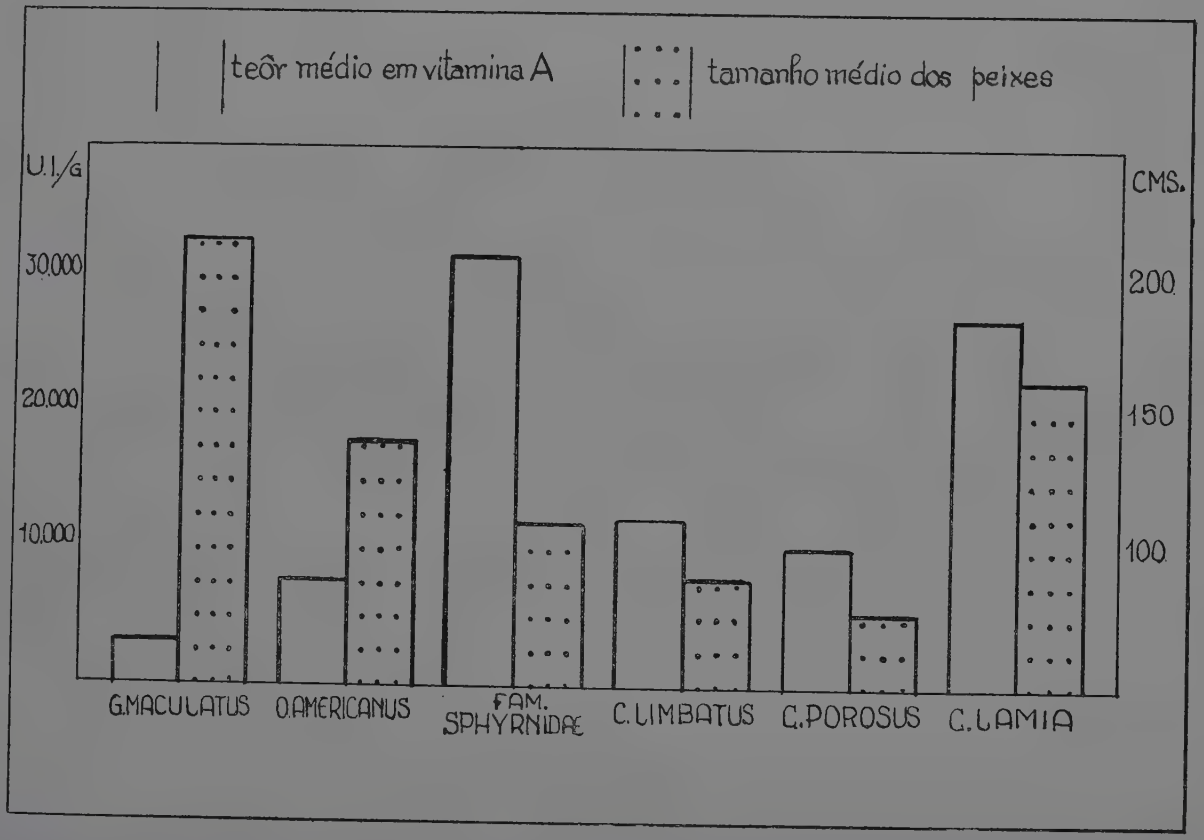
MESES	C. LAMIA		G. MACULATUS		C. LIMBATUS		O. AMERICANUS		FAM. SPHYRNIDAE		C. POROSUS	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Abril	11.875		1.100		5.275		1.642		9.091			
Maio		12.077	1.000		4.100		850			30.070		
Junho		33.382	1.000	6.698		15.364				28.297		19.248
Julho	9.206	99.918	2.000	4.754			20.662	7.618		31.823	21.523	20.146
Agôsto							1.000			16.062	6.135	6.227
Setembro	16.640										13.763	6.256
Outubro	15.732										12.900	5.060
Novembro	8.608		5.175	100					32.000	36.720		
Dezembro	50.800	26.900	3.734							59.686	13.000	5.791
Janeiro	19.485	40.728							14.148	28.466	4.035	
Fevereiro	10.079	23.557	9.041									
Março	4.712		800	2.000								
Soma de todos os lotes	540.150	581.196	28.685	20.251	9.375	15.364	70.407	7.618	213.355	742.820	190.849	174.836
MÉDIA ANUAL	13.503	41.514	2.869	4.050	4.687	15.364	7.823	7.618	26.669	37.141	11.226	9.713
MÉDIA P/ESPÉCIE	27.508		3.459		10.025		7.720		31.905		10.469	

TABELA 16

RELAÇÃO ENTRE O COMPRIMENTO MÉDIO DOS PEIXES E O TEOR MÉDIO EM VITAMINA A POR ESPÉCIE

ESPECIE	N. DE EXEMPLARES	COMPRIMENTO m	U. I./g.
G. maculatus	58	2,15	3.459
O. americanus	80	1,40	7.720
Fam. Sphyrnidae	202	1,10	31.905
C. limbatus	78	0,90	10.023
C. porosus	2.521	0,77	10.469
C. lamia	146	1,76	27.508


U.I./G.
40.000
30.000
20.000
10.000
G.MACULATUS
O.AMERICANUS
FAM. SPHYRNIDAE
C.LIMBATUS
C.POROSUS
C.LAMIA


teôr médio em vitamina A
tamanho médio dos peixes
U.I./G
30.000
20.000
10.000
CMS.
200
150
100
G.MACULATUS
O.AMERICANUS
FAM. SPHYRNIDAE
C.LIMBATUS
C.POROSUS
C.LAMIA

III — VITAMINA D

O método que empregamos foi o previsto na Farmacopéia Americana, (9), usando o "line test" associado ao método radiográfico de Bourdillon et al., 1931, (1), para a organização dos lotes dos ratos.

Esta associação permite agrupar os animais com igualdade dos graus de raquitismo, contribuindo para a obtenção de respostas uniformes.

Os animais foram selecionados na criação do Instituto Oswaldo Cruz, tendo-se observado as condições de saúde, pêso e as demais previstas na técnica adotada.

A dieta raquitogênica utilizada foi a de Steebock & Black, n. 2.965 (1925).

As radiografias foram feitas com equipamento portátil GE, após vinte e quatro dias de dieta raquitogênica e, pelos sinais de raquitismo apresentados, os ratos eram divididos pelos vários lotes.

Os óleos de cação examinados foram diluídos com óleo de olivas, para a administração das doses diárias. Usamos óleos de algumas espécies dêsses peixes.

Na escolha das doses aproximadas, guiamo-nos por provas iniciais, com alguns lotes de animais, usando doses com intervalos maiores de concentrações.

TABELA 17

CURVA DOS PESOS

LOTE	N. DO RATO	INICIAL	DIETA RAQ.	1.ª SEMANA	2.ª SEMANA	3.ª SEMANA	DET.
	1	51	56	68	83	90	92
	4	46	54	65	82	86	84
a	5	46	54	65	84	90	94
	16	56	64	76	92	110	114
	2	45	54	66	76	86	94
	10	48	56	69	88	92	94
	18	61	70	83	98	106	114
b	20	48	50	60	82	90	98
	22	41	40	51	66	76	80
	28	54	54	65	86	96	108

Lote *a* — usou o óleo em dosagem;
Lote *b* — usou o óleo padrão;
Dieta raq. — início da administração da dieta raquitogênica;
Det. — fim do período da administração do óleo em exame e do óleo padrão.

TABELA 18

CURVA DOS PESOS

LOTE	N. DE RATO	INICIAL	DIETA RAQ.	1.ª SEMANA	2.ª SEMANA	3.ª SEMANA	DET.
	1	44	48	62	69	86	94
	5	42	38	54	69	83	86
a	8	56	56	76	85	92	93
	12	50	54	70	79	92	96
	16	48	48	55	55	60	74
	3	40	38	57	70	82	92
	10	46	50	62	68	75	80
b	11	58	60	80	100	118	120
	14	50	52	73	86	94	95
	17	46	52	62	76	88	90

Lote *a* — usou o óleo em dosagem;
Lote *b* — usou o óleo padrão;
Dieta raq. — início da administração da dieta raquitogênica;
Det. — fim do período da administração do óleo em exame e do óleo padrão.

Localizado o nível provável da potência em vitamina D, nova determinação era feita, então, para cada óleo, empregando concentrações mais próximas.

Descreveremos duas determinações finais, com os dados colhidos com amostras de óleos de fígado de *Carcharias lamia* e *Carcharias limbatus*.

Os lotes expostos nos quadros anteriores foram os que apresentaram índice de recalcificação igual ao dos lotes que usaram o óleo padrão (b).

Cálculo do "test" curativo :

1 — *C. lamia.*

Dose diária do óleo de cação: 47 mg.
Dose diária do óleo padrão: 0,4 mg.
Dosagem do óleo padrão : 10.000 U.I/g.

R = 85 U.I./g. no óleo de cação.

2 — *C. limbatus.*

Dose diária do óleo de cação: 39 mg.
Dose diária do óleo padrão: 0,4 mg.
Dosagem do óleo padrão: 10.000 U.I./g.

R = 125 U.I./g. no óleo de cação.

CONCLUSÕES

1. E' descrita uma técnica de dosagem de Vitamina A nos óleos de fígado de cação, utilizando o colorímetro fotoelétrico de LEITZ, com filtro especialmente adaptado para as medidas a 620 mμ, e empregando somente 4 ml de reagente antimônico.

Os resultados conseguidos com esta técnica conduziram à afirmação da possibilidade do controle industrial perfeito dos óleos de fígado de cação, pelo exame rápido de grande número de amostras diàriamente, o que permite uma seleção dos mesmos pelos seus vários níveis de vitamina A;

2. O inquérito realizado durante o primeiro ano, na Secção Industrial da Escola Técnica Darcy Vargas, na Ilha da Marambaia, Estado do Rio, relativamente à ocorrência da vitamina A nos óleos de fígado dos cações, aí recolhidos para industrialização, é apresentado com todos os dados obtidos.

Ressaltam desse primeiro inquérito as observações relativas à influência do sexo, do tamanho, da espécie ou gênero, da estação da pesca e, ainda, do método desta.

Quanto à influência do sexo: os dados expostos nas tabelas de ns. 3 a 14, no resumo na tabela 15 e gráfico 3, mostram claramente uma predominância dos exemplares machos sôbre as fêmeas.

Quanto ao tamanho dos peixes, a conclusão foi de que não existe relação alguma do mesmo com a potência vitamínica dos óleos, como se poderá verificar melhor no gráfico 4. Aí se notará, por exemplo, que o *G. maculatus*, sendo o peixe de maior tamanho médio, é exatamente o de menor índice vitamínico. Por outro lado, o *C. lamia*, que fornece bons óleos, também ocorre em tamanho médio de 1,76 m, portanto relativamente grande.

Dessa forma, o porte do peixe não parece estar relacionado com o nível de vitamina A do óleo.

Quanto à especie, mostram os dados colhidos que, de fato, existem níveis médios variaveis particulares a cada uma. Entretanto, isso não exclue a ocorrência, entre os peixes de uma espécie de nível alto, de exemplares com pouca ou nenhuma vitamina. Estas observações conduziram-nos à admissão da influência decisiva da alimentação dêsses peixes.

A estação da pesca não alterou de modo notável os dados observados. Tampouco o método da pesca influencia o nível vitamínico, mas somente a qualidade dos exemplares capturados em estados de vida particulares, que vão se refletir sôbre a quantidade de vitamina reservada.

3. A presença e quantidade de vitamina D foi investigada, relatando-se os resultados obtidos em duas espécies: *C. lamia* e *C. limbatus,* com respectivamente 85 e 125 U.I./g.

— Queremos expressar aquí os nossos mais profundos agradecimentos ao magnânimo Provedor do Abrigo do Cristo Redentor, Sr. Rafael Leví Miranda, pela bondosa cooperação com elevado idealismo, permitindo, não só a realização do presente trabalho, como o estabelecimento de um plano de investigação sistemática na Escola Técnica Darcy Vargas.

Aos demais companheiros e auxiliares, o nosso melhor reconhecimento, pelo valioso apôio moral e material recebido.

SUMMARY

1. The author suggests a tecnique for the determination of vitamin A on shark liver oils in industrial plants.

The advantages of using only four ml. of reagent and of permitting a quickly rigorous reading by photoelectric cell, contribute to the possibility of the examination of a great number of samples daily;

2. It is described a survey on the vitamin A content of oils from shark livers, which has been made at the Fishing School Darcy Vargas, Marambaia Is., Rio de Janeiro State.

The conclusions are the following :

a) Male individuals have showed generally tendency for higher vitamin A pontency oils;

b) The size of the fish does not interfere in the vitamin content of the oil (graphic 4);

c) The data collected upon 3.085 individuals led to the conclusion that some species are richer in the reservated vitamin although it was possible to catch in the same specie fishes with widely variable potency in vitamin A. One fish belonging to the specie *C. lamia* produced the highest vitamin potency oil with 167.712 international units per gram;

d) The fishing season appears to have no influence on the oils;

e) The adventitious food seems to be the most important factor affecting the content of vitamin A of the shark-liver oils;

3. The presence and the quantity of vitamin D in those oils was investigated and two of the determinations are presented.

BIBLIOGRAFIA

1. Bourdillon et al.

1931. in Coward, Biological Standardization of Vitamins, 1939, ed. Brallière, Tindall & Cox, pág. 118.

2. Carr, F. H. & Price, E. A.

1926. Colour reactions attributed to vitamin A. — Biochem. J., vol., 20, págs. 597.

3. Dann, W. J. & Evelyn, K. A.

1938. The determination of vitamin A with the photoelectric colorimeter. — Biochem. J., vol. 32, págs. 1.008.

4. Emmerie, A.

1938. Inhibition of the Carr & Price reaction for vitamin A by substances in cod-liver oil. — Rec. trav. chim., vol. 57, págs. 776.

5. Hermsdorff, G. & Peckolt, O. L.

1939. Riqueza vitamínica dos óleos de fígado dos peixes desmobrânquios brasileiros. Bol. Min. Agr., n. de Julho e Setembro.

6. Holmes, H. N. & Corbert, R. E.

1937. The isolation of crystalline vitamin A. — J. Am. Chem. Soc., vol. 59, págs. 2.042.

7. Koehn, C. J. & Sherman, W. C.

1940. The determination of vitamin A and carotene with the photoelectric colorimeter. — J. Biol. Chem., vol. 132, págs. 527.

8. Mc. Farlan et al.

1937. A new photoelectric method for measuring vitamin A. — Ind. Eng. Chem., An. Ed., vol. 9, págs. 324;

9. U. S. Dispensatory

22.ª edição, Wood & Lawal, ed. Lippincott & Co., págs. 1.673.

Classificação dos peixes :

Ribeiro, A. M. — 1907 — Fauna brasiliense. Peixes. — Arq. Mus. Nac., vol. 14, págs. 29.

Leucose linfóide hemocitoblástica da galinha

pelo

Dr. Jônio F. de Salles

(Com três figuras no texto)

Nunca é demais, pois sempre desperta interêsse, a divulgação de doenças expontâneas dos animais, levando-se em conta, que na maioria das vézes elas esclarecem processos patológicos ocorrentes ao homem.

O nosso material é constituído por fígados de galinhas, necropsiadas uma, na secção de Helmintologia (Prof. Lauro Travassos) e a outra na secção de Bacteriologia (Dr. J. C. Penido) do Instituto Oswaldo Cruz.

No primeiro caso, o órgão, muito aumentado de volume, pesava 310 g. e media em seus maiores diâmetros, respectivamente, 14x10x8 cm. Conservando contudo, a configuração geral do fígado normal (figuras 1 e 2).

Sua superfície é regular branca-amerelada, sendo a cápsula delgada. Ao córte, não se destingue o desenho lobular, aparecendo em determinadas zonas uma pigmentação castanho-escura.

No segundo caso, conseguimos apenas, obter material para o estudo histopatológico.

Retirámos fragmentos para estudo histológico, de várias regiões de ambos os fígados, notando-se em todos os preparados microscópicos, o mesmo aspecto que passamos a descrever: São vistas numerosas células mononucleares, evidentemente estranhas ao órgão, infiltrando, profusamente, o parênquima hepático, a ponto de tornar irreconhecível a estrutura do órgão, sendo esta, somente característica, na vizinhança de alguns espaços porta, onde as traves de Remak mantem o aspecto habitual. As células infiltrantes são de dimenções médias, de forma globósa, possuindo núcleos hipercromáticos, ovais e com contornos bem regulares.

Os limites do citoplasma são nítidos na maioria das vêzes. Não raro, são vistos entre estas células, leucócitos polimorfonucleares, muitas vêzes em

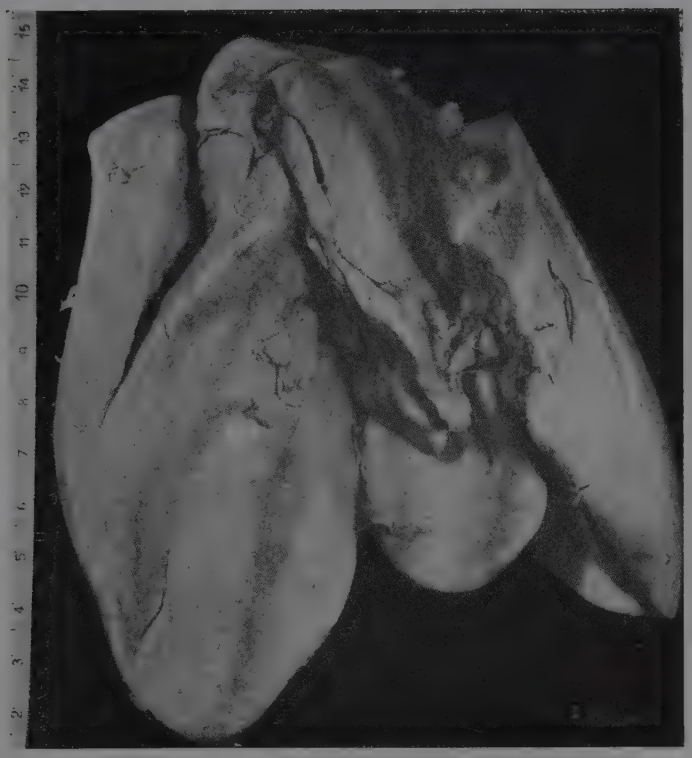
pequenos aglomerados. Não são vistas células da série vermelha nem megacariócitos. Chama a atenção a ausência de necrose, embora os tecidos sejam constituídos, em extensão mais ou menos considerável, unicamente pelas células mencionadas, estranhas ao órgão. (figura 3).

Fotografia de Pinto Filho.

Fig. 1 — Fígado de galinha muito aumentado de volume, conservando contudo, a configuração normal do órgão.

Não há predominância evidente de um tipo de linfócito, ora são vistos linfócitos perfeitamente diferenciados, ora células semelhantes a grandes linfócitos.

Visando caracterizar o tipo da leucose, fizemos o estudo comparativo dêste material, com preparados de baço normal de galinha, vimos então, que as células do folículo linfóide, são bem semelhantes às células que infiltram os fígados em questão. Uma única diferença se nos evidenciou, o tamanho

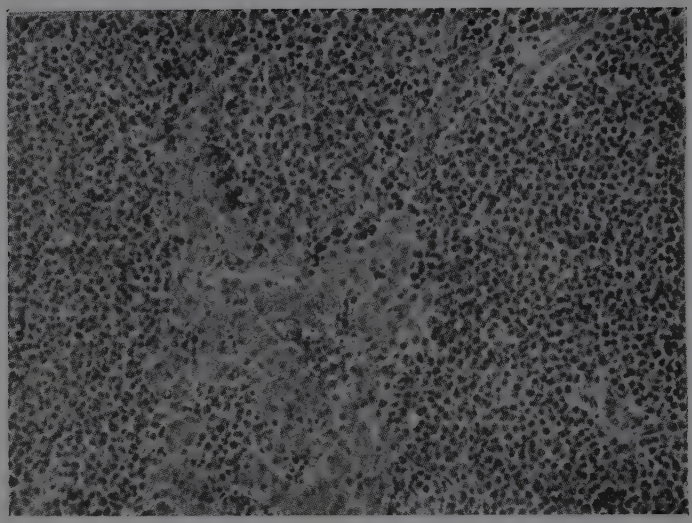


Fotografia de *Pinto Filho*.

Fig. 2 — Apezar da hipertrofia, vê-se também pela face posterior, que o fígado conserva o aspecto normal.

dos núcleos. As células dos folículos linfóides, possuem os seus núcleos menores, com contornos pouco nítidos e com seus nucléolos pouco visíveis.

Estas células, de potencialidade mal conhecida, que segundo alguns autores, podem dar eritrócitos, mielócitos e linfócitos, são por isto mesmo classificadas como células hemocitoblásticas.



Microfotografia de *Pinto Filho*.

Fig. 3 — Córte histológico de fígado de galinha. Nota-se intensa infiltração hemocitoblastica. Aumento 350 vezes.

CONCLUSÃO

O A. apresenta dois casos de Leucose linfóide hemocitoblástica da galinha. A lesão se caracteriza pelo grande aumento do fígado conservando o órgão a sua configuração normal. Ao microscópio, nota-se infiltração de células relativamente desenvolvidas, de potencialidade mal conhecida, núcleos grandes, hipercromáticos, ovais, tendo seus contornos regulares e os nucléolos bem visíveis. Estas células são classificadas como células hemocitoblásticas, porque, para muitos autores, dão eritrócitos, mielócitos e linfócitos.

SUMMARY

The author presents two cases of hemacytoblastic lymphoid leukosis of the hen.

The lesion is principally characterized by big enlargement in size of the liver and by intense lymphocytic infiltration.

The cells are classified as hemocytoblastic cells, because they produce erythrocytes, myelocytes and lymphocytes.

Carcinoma metastatico do baço

pelos

Drs. A. Penna de Azevedo e Jonio F. de Salles

(Com 17 figuras no texto)

A verificação de metástases de blastomas epiteliais no baço motiva ainda, real interêsse para pesquisas.

A incidência do fato é considerada rara, parecendo depender particularmente, do método empregado na colheita e no exame do material, conforme conclusão a que chegaram os vários autores, alguns tendo trabalhado com abundante material.

ASCHOFF informa que a incidência de 1 a 4 %, encontrada em grandes estatísticas para tumores malignos metastáticos do baço, atinge 10 %, quando é realizada uma pesquiza microscópica sistemática daquele órgão.

GEIPEL (1912) apresenta dois casos de carcinoma e dois de sarcoma metastático no baço. Os carcionomas eram um, primitivo do pâncreas e o outro, do útero. Ambos os sarcomas eram originários dos brônquios. E' possível que os tumores considerados aquí, como sarcomas do brônquio, fossem, de fato, carcionomas de células indiferenciadas (oat-celled sarcoma). Seis casos de carcionoma metastático do baço, são publicados por CHALATOW (1914). DI BIASI (1926), ao apresentar 15 casos de observação pessoal, em suas conclusões, estabeleceu que em 2.422 casos de carcionomas, colecionados no Instituto de Patologia da Universidade de Berlim, as metástases no baço foram achadas 50 veses (2,1 %) e são mais comuns no sexo masculino que no feminino.

KRAFT (1926) cita o caso de uma mulher de 49 anos, portadora de tumor na glândula mamária, com propagação para os gânglios regionais. Feito o exame histopatológico, ficou evidenciado tratar-se de um carcionoma da glândula mamária. Praticada, dois meses após, a esplenectomia nesta doente, verificou-se que o baço pesava dois quilos e apresentava, ao exame microscópico, metástases de estrutura semelhante à do tumor maligno primário.

* Recebido para publicação a 25 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

YOKOHATA (1927) em 17.733 autópsias, encontrou a incidência de 1,76 % de metástases carcinomatosas no baço.

SAPPINGTON (1927) é de opinião que as metástases tanto carcinomatosas, como sarcomatosas, são realmente raras no baço. Dá a conhecer, em referência, a seguinte estatística : MARSCHOFF, em 1.078 casos, encontrou oito vêzes metástases no baço (0,7 %); GUSSENBAUER e WINWARTER, encontraram 13 vêzes em 1.445, necropsias — (0,9 %); BUDAY, em 366 necropsias, quatro vêzes (1,9 %); W. MIELEK, em 516 casos, observou metástases em 10 (1,09%); DI BIASI, em 9.761 casos, 182 vêzes (1,09 %).

No trabalho de WARREN e HOBSON DAVIS (1934) encontram-se as seguintes indicações estatísticas: ADLER, em 374 autópsias, 4,8 %; HANDLEY em 422, 0,3%; KAUFMANN em 1.078, 0,7%; KETTLE em 240, 3,3%; KRUMBAAER em 930, 2,9 %; PAGET em 735, 2,3%; REICHELMAN em 670, 2,2%; TAYLOR em 677, 1,0%.

Permanece mal determinada a razão pela qual goza, o baço de relativa imunidade no que concerne a blastomas metastáticos. As opiniões distribuem-se em dois grupos : em um dêles, a razão invocada está na reação que o tecido esplênico mostra em relação às células blastomatosas; no outro grupo, são considerados argumentos de ordem mecânica, tais a ausência de linfáticos aferentes, o modo de implantação da artéria esplênica no tronco celíaco, bem como as pulsações rítmicas do órgão (DIAL, 1930).

DI BIASI atribúi importância a uma possível influência da deficiência alimentar sôbre a localização das metástases no baço, considerando que, durante os anos de 1918 a 1923, a percentagem de metástases no baço aumentou de 1,8% para 3,2%.

Apresentamos, a seguir os casos de metástases carcinomatosas do baço colecionados no Serviço de Necropsias, da Secção de Anatomia Patológica do Instituto Oswaldo Cruz. Em quatro dêles, houve a verificação macroscópica da metástase; nos restantes a lesão do baço foi reconhecida após o exame microscópico de fragmentos isolados retirados durante a necropsia.

São os seguintes, os casos que tivemos a oportunidade de estudar:

1.º caso A. 2.977 — Dr. A. Penna de Azevedo — 15-3-1937.

J. C. C., masculino, operário, 54 anos de idade, brasileiro, branco.

Diagnóstico anatômico: — Adenocarcinoma da cabeça do pâncreas com metástases no baço, no fígado, no peritônio, na pleura costal esquerda, nos gânglios linfáticos abdominais e no epiploon. Arterioesclerose. Aortite sifilítica. Atrofia parda do miocárdio e do fígado. Petéquias na mucosa do bacinete. Edema dos membros inferiores. Caquexia.

Pâncreas de volume mais ou menos normal, mostrando-se bastante aderente aos orgãos vizinhos. Apresenta na sua espessura, ao nível da cabeça, proliferação de tecido branco úmido, pouco brilhante, de consistência firme, sem áreas de desintegração. Em certas porções, êste tecido neoformado, tem coloração nitidamente amarela.

Na espessura do tumor, que tem aproximadamente o tamanho de uma noz, observa-se em alguns cortes, amolecimento da parte central. O tecido pancreático é de coloração amarelada e de consistência diminuída.

CASO N. 1

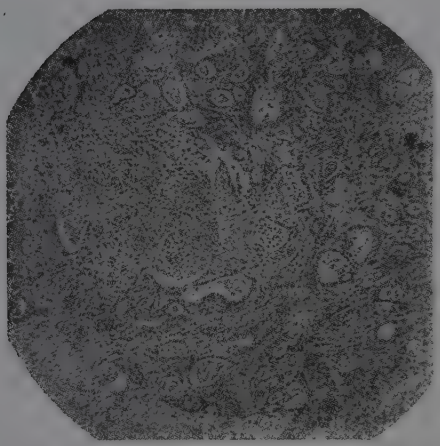


Fig. 1 — Aumento 95 vezes.

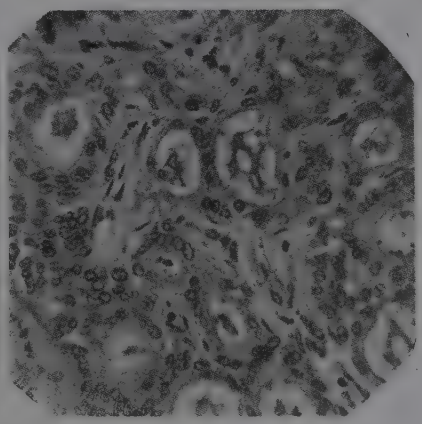


Fig. 2 — Aumento 450 vezes.

Baço medindo 12 x 6 x 2,5 cm. Cápsula espessada e rugosa em tôda a superfície, encontrando-se, proeminentes, quatro nódulos de tecido estranho, dos quais, o maior, é do tamanho de uma avelã. Tais nódulos são constituídos por tecido de cor branca-amarelada, aspecto úmido, amolecidos. Ao corte, a superfície do baço é de côr vermelho-escura, sendo bastantes desenvolvido o tecido conjuntivo e obscurecido o linfóide. A polpa não é difluente.

O exame microscópico de cortes do baço, revela ligeiro espessamento dos septos conjuntivos, e de modo discontínuo, da cápsula. Igualmente em tôrno dos vasos, existe aumento do tecido fibroso. Os seios venosos mostram-se dilatados; quantidade escassa de pigmento amarelado, no citoplasma de macrófagos. Em certa região, existe uma área mal delimitada constituída por tecido estranho, de estrutura epitelial, as suas células sendo atí-

picas e cilíndricas, mais frequentemente dispostas em uma só camada e adquirindo, em certas formações de estrutura acinosa, aspecto multiestratificado. Zonas de necrose, são observadas na espessura do tumor (figuras 1 e 2).

2.º caso A. 3.599 — Dr. C. B. Magarinos Torres — 12-1-1938.

A. J. C., masculino, operário, 34 anos de idade, brasileiro, branco.

Diagnóstico anatômico: Adenocarcinoma da vesícula biliar com metástases no fígado, no baço, nos gânglios linfáticos retro-peritoniais, na pleura e no pâncreas. Icterícia. Hiperemia, infiltração gordurosa e tumefação turva dos rins. Degenerecência lipóide das suprarrenais. Dilatação das cavidades direitas do coração. Caquexia.

CASO N. 2

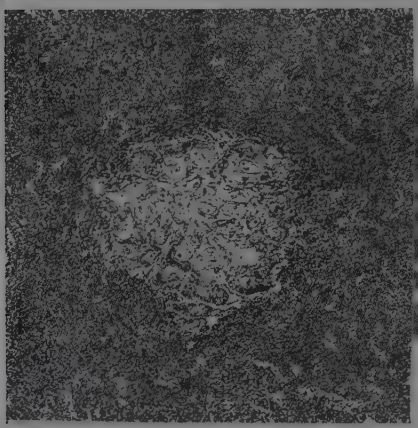


Fig. 3 — Aumento 95 vezes.

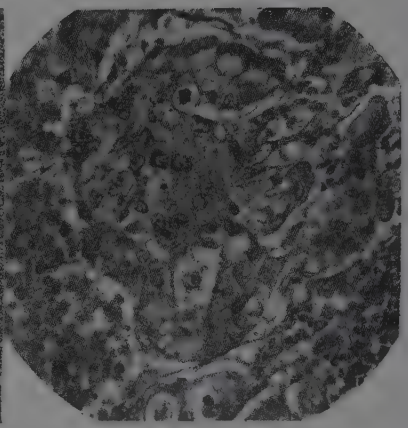


Fig. 4 — Aumento 450 vezes.

Vesícula biliar diminuída de tamanho, tendo as suas paredes espessadas e granulosas. Pela palpação, apresenta-se com o corpo endurecido, sendo que nenhuma bile surge pela compressão no duodeno; aberta a vesícula, encontra-se material espesso amarelo, não existindo cálculos. As suas paredes bastante espessadas, medem 8 mm e em certos pontos, são invadidas por tecido amarelo, sob a forma de nódulos confluentes nìtidamente estranhos ao órgão.

Ao microscópio, nota-se a cápsula discretamente espessada, mostrando em alguns campos, ligeira infiltração de células mononucleares. Septos conjuntivos igualmente espessados; seios venosos túrgidos. Folículos linfóides com aspecto normal. Em uma parte do corte, na espessura de um septo conjuntivo, nìtidamente espessado, e em certa área do baço (fig. 3) observa-se a presença de blastoma epitelial, formando por células acentuadamente anaplásicas, dispostas em tubos geralmente providos de cavidade central. (fig. 4), não sendo raras na espessura do tumor, as zonas de necrose.

CASO N. 3

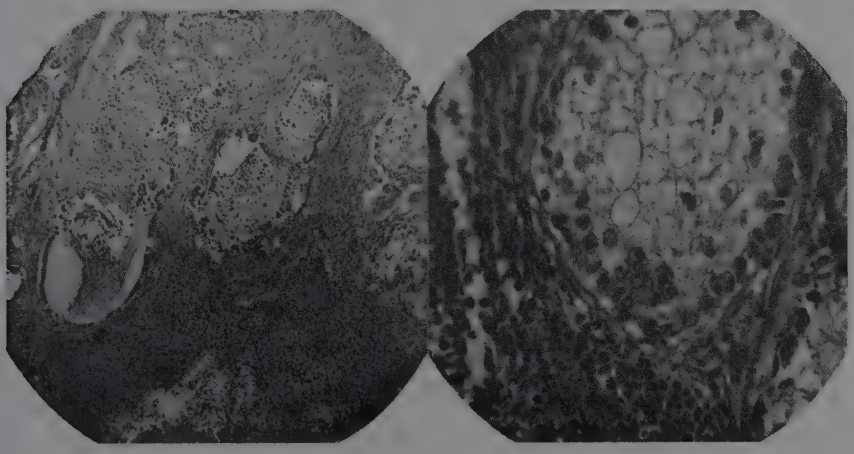


Fig. 5 — Aumento 95 vezes.

Fig. 6 — Aumento 450 vezes.

3.º caso A. 4.853 — Drs. C. B. Magarinos Torres e J. M. Sampaio, 15-2-1940.

R. A. S., feminino, doméstica, 48 anos de idade, brasileira, branca.

Diagnóstico anatômico: Adenocarcinoma da cabeça do pâncreas, com metástases no baço, no fígado e no peritônio. Pleurite fibrosa crônica adesiva. Atrofia e fibrose do baço. Atrofia parda do miocárdio. Caquexia.

Estômago mostra a mucosa brilhante, de coloração verde-escuro. Nota-se ao nivel do piloro, que a superfície do estômago apresenta três depressões convergentes, sem haver contudo, aparente ulceração do tecido. Esta região

do estômago apresenta estreitas relações com a cabeça do pâncreas. Um corte feito nesta região, mostra que o tecido pâncreático é reconhecível, apenas, na porção mais afastada do estômago. Em quase tôda a superfície do corte, nota-se tecido branco-acinzentado, com zonas hemorrágicas, o qual substitue o tecido do pâncreas.

Baço diminuído de tamanho, medindo 7,5 x 4,5 x 2 cm. Pesa 58 g. A capsula é espessada de modo uniforme. Consistência firme. Superfície do corte, de côr violácea, mostrando o tecido conjuntivo mais aparente que o normal. Polpa não difluente.

Pelo exame microscópico, nota-se que a cápsula e os septos conjuntivos são normais. Seios venosos congestos e delitados. Discreta hialinose das arteríolas peniciladas; folículos linfóides atrofiados. Existem na espessura do corte, áreas mal delimitadas, de tecido estranho, substituindo a estrutura normal do órgão (figura 5), formado por células epiteliais atípicas, dispostas em córdões ocos, dando ao tumor, o aspecto glandular (figura 6). O blastoma apresenta extensa área de necrose.

4.º caso A. 6.441 — Dr. A. Penna de Azevedo, 29-9-1933.

R. M. C., feminino, lavadeira, moça, brasileira, parda.

Diagnóstico anatômico: Adenocarcinoma da glândula mamária. Metástases no baço, nos gânglios linfáticos retro-esternais, axilares direitos, cervicais, traqueobrônquicos, do hilo dos pulmões, nos rins e nos pulmões. Atrofia do coração. Aortite crônica. Esplenomegalia.

A glândula mamária direita foi retirada, existindo em seu lugar, uma extensa cicatriz.

Baço mede 21 x 12 x 7 cm e pesa 780 g. A cápsula é irregularmente espessada. Ao corte, a superfície é vermelho-escura, sendo bastante desenvolvido o tecido fibroso.

Ao microscópio, a cápsula e as trabéculas conjuntivas aparecem ligeiramente espessadas. Polpa vermelha congesta, notando-se em alguns pontos, pequenos focos hemorrágicos. Folículos linfóides, normais.

Na luz de um vaso, em uma trabécula, são vistas células epiteliais cilindricas atípicas, formando um êmbolo aderente à parede vascular, (figura 7). O tecido assim formado, evidentemente estranho ao órgão, constitue áreas celulares densas, atingidas, por necrose central e esboçando, ocasionlmente o aspecto glandular (fig. 8).

CASO N. 4

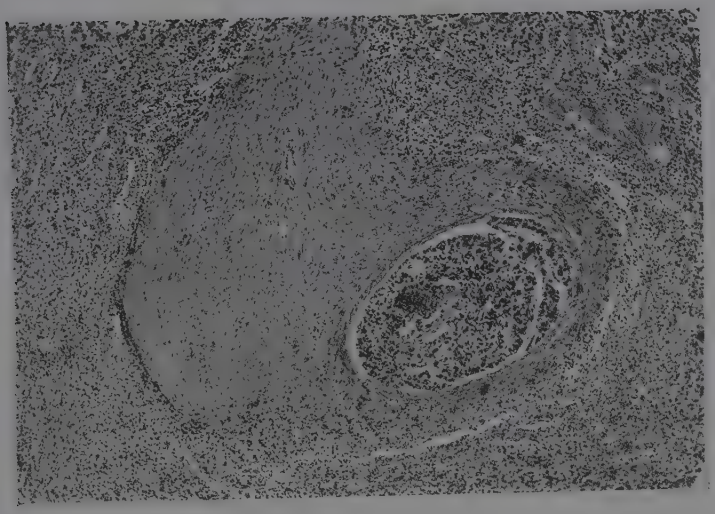


Fig. 7 — Aumento 95 vezes.

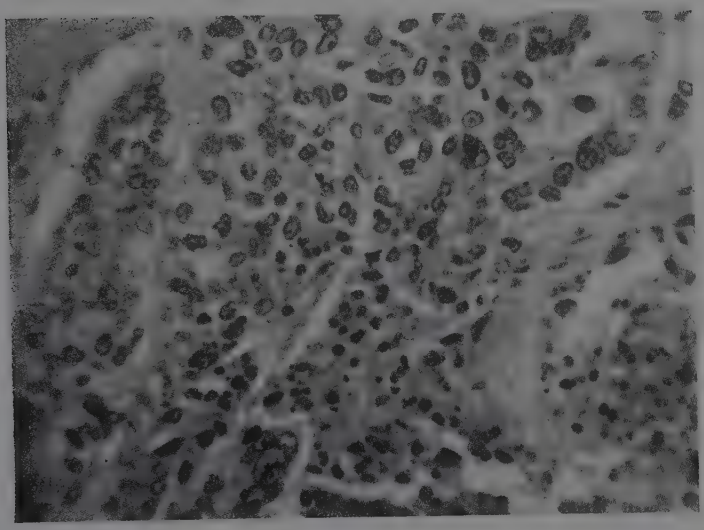


Fig. 8 — Aumento 450 vezes.
Microfotografias de *J. Pinto*.

5.º caso A. 6.894 — Dr. A. Penna de Azevedo, 28-10-1935.

C. C. P., feminino, doméstica, 60 anos de idade, brasileira, preta.

Diagnóstico anatômico: Adenocarcinoma do pâncreas com metástases no peritônio e no baço. Atrofia parda do miocárdio e do fígado. Ascaridíose. Fibromas múltiplos do útero. Edema sub-cutâneo.

Pâncreas fortemente aderente ao estômago, encerrando em sua espessura, massas de tecido estranho, não só ao nível da cabeça, como também, ao nível da cauda.

CASO N. 5

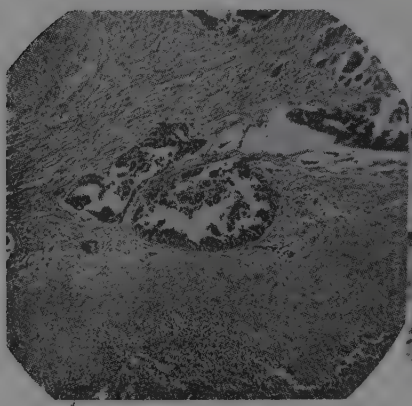


Fig. 9 — Aumento 95 vezes.

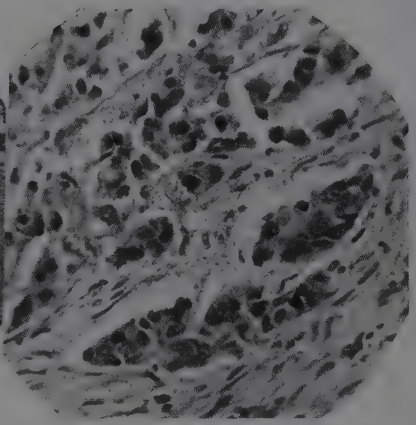


Fig. 10 — Aumento 450 vezes.

Baço diminuído de volume, apresentando a cápsula espessada, de aspecto cartilaginoso. Ao corte, a superfície é de côr vermelho-escura, com acentuado desenvolvimento do tecido fibroso. Ao nível do hilo, observa-se acentuada proliferação de tecido estranho, o qual contudo, não parece infiltrar o tecido esplênico.

Ao exame microscópico de fragmentos do baço, nota-se acentuado espessamento da cápsula e das trabéculas conjuntivas. Na parede de algumas arteríolas peniciladas, vê-se discreta hialinose. Os folículos linfóides são bem conservados.

Extensa zona de proliferação conjuntiva, aparece em determinado ponto, mostrando em sua espessura, áreas conspícuas de tecido blastomatoso (fi-

gura 9) formado, de modo evidente, por células epiteliais cilíndricas, com deformidade nuclear acentuada.

As células do blastoma dispõem-se em cordões e reproduzem estrutura glandular (Figura 10).

6.º caso A. 6.922 — Drs. A. Penna de Azevedo e Rita A. Cardoso.

S. R., feminino, doméstica, 31 anos de idade, brasileira, parda.

Diagnóstico anatômico: Adenocarcinoma do colon com metástases no baço, nos gânglios linfáticos mesentéricos e peri-gástricos. Atrofia parda do miocárdio e do fígado. Arterioesclerose. Trombose da artéria femural. Edema e hiperemia dos pulmões. Edema dos membros inferiores. Caquexia.

Na parede abdominal anterior, em relação com o bordo inferior da última costela esquerda, na altura da linha mamilar, existe uma massa irregular, aderente à parede, constituída por tecido de côr branco-amarelada, friavel, revestida superficialmente por material fibrinoso pouco abundante. Na porção central, essa massa apresenta um orifício de 3 cm. de diâmetro, o qual se acha em relação com o intestino grosso. A massa no seu conjunto, forma uma área arredondada de 11,5 cm de diâmetro, lembrando a implantação de uma boca, cujos bordos apresentam forte proliferação de tecido estranho. O intestino grosso, ao nível do ângulo cólico esquerdo, apresenta forte processo de proliferação de tecido branco-amarelado, friável, exuberante, ulcerado, desintegrando-se com facilidade. Forma-se assim, uma massa tumoral do tamanho da cabeça de feto, apresentando aderências firmes ao polo inferior do baço, ao pancreas, ao rim e suprarrenal esquerdos, bordo inferior do fígado e alças delgadas próximas.

Baço mede 11 x 6 x 3 cm e pesa 140 g. O órgão é fortemente aderente à massa tumoral situada ao nível do ângulo cólico esquerdo. A cápsula é irregularmente espessada. Ao corte, a superfície é de côr vermelho-escura, sendo reconhecíveis os tecidos linfóide e conjuntivo. Não há difluência da polpa. Na superfície do corte, observa-se existência de uma massa constituída por tecido branco-amarelado, pouco friável, evidentemente estranho ao órgão. A porção assim comprometida, corresponde à extremidade inferior do baço, a qual se acha fortemente aderente ao processo tumoral.

Ao exame microscópico, a cápsula conjuntiva apresenta-se ligeiramente espessada, trabéculas com aspecto normal. Na espessura do órgão, existe proliferação de células epiteliais atípicas, formando acinos de luz ampla. Freqüentemente na espessura do tumor, observa-se processo de necrose. (figuras 11, e 12)..

CASO N. 6

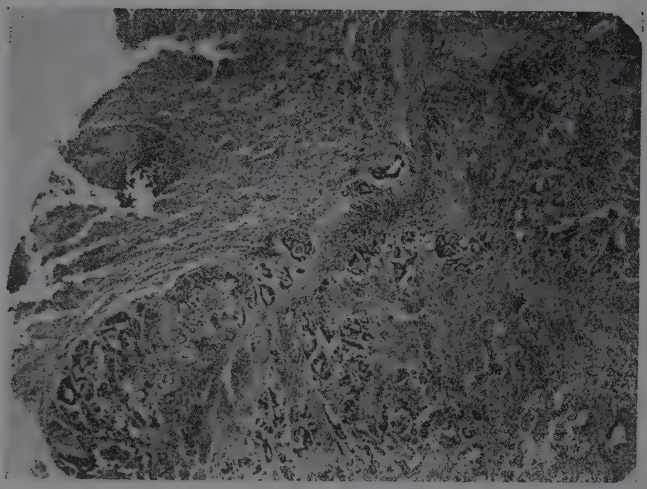


Fig. 11 — Aumento 95 vezes.

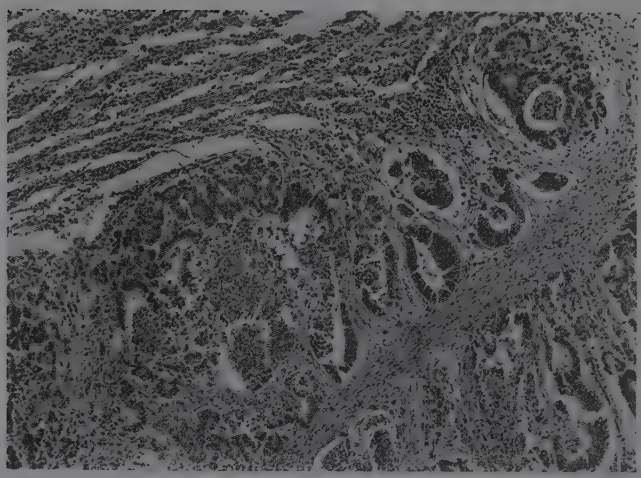


Fig. 12 — Aumento 450 vezes.

Microfotografias de *J. Pinto*.

7.º caso A. 7.110 — Drs. C. B. Magarinos Torres e R. L. Pimenta de Mello, 2-7-1941.

M. F. feminino, domestica, 40 anos de idade, brasileira, branca.

Diagnóstico anatômico: Adenocarcinoma fibroso do estômago com metástases no baço, fígado, pulmão, ovário e miocárdio. Dilatação do ventrículo direito do coração. Esplenite aguda. Pericardite fibrosa crônica. Congestão crônica passiva do fígado. Perisalpingite crônica bilateral. Hidatide de Morgagni. Edema e congestão de ambos os pulmões. Hidrotórax bilateral.

CASO N. 7

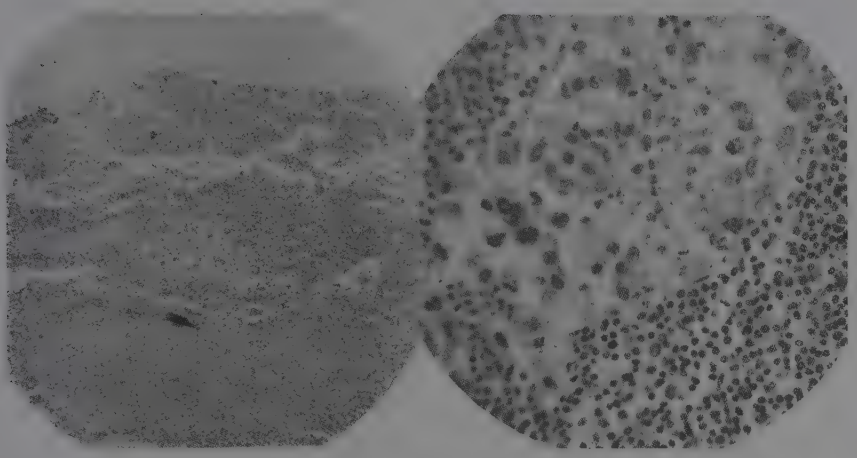


Fig. 13 — Aumento 95 vezes.

Fig. 14 — Aumento 450 vezes.

Estômago com as pregas conservadas, mostrando duas ulcerações, com bordos talhados a pique, situadas logo acima do piloro. Uma delas mede 5 x 3 x 1,5 cm. Um corte praticado perpendicularmente à superfície da ulcera maior, mostra que o seu fundo é formado pela superfície do pâncreas subjacente.

Baço mede 12 x 7,5 x 4,5 cm e pesa 140 g. A capsula é espessada de modo uniforme, enrugada; consistência diminuída, deformando-se o órgão quanto colocado sôbre a mesa. A superfície do corte é de côr vermelho-escura, sendo o tecido conjuntivo mais aparente que o normal, o linfóide obscurecido e a polpa distintamente difluente.

Ao microscópio, nota-se a cápsula conjuntiva ligeiramente espessada, trabéculas com aspecto normal. Seios venosos distendidos. Vê-se, em certa porção do órgão, um folículo tuberculoso, com células gigantes, células epitelióides e linfócitos. Endoarterite obliterante de algumas arteríolas peniciladas, bem como discreta hialinose. Em determinada porção do órgão, existe uma área circunscrita formada por tecido estranho(figura 13), de estrutura epitelial, cujas células atípicas, conservam frequentemente, uma luz central. (figura 14).

CASO N. 8

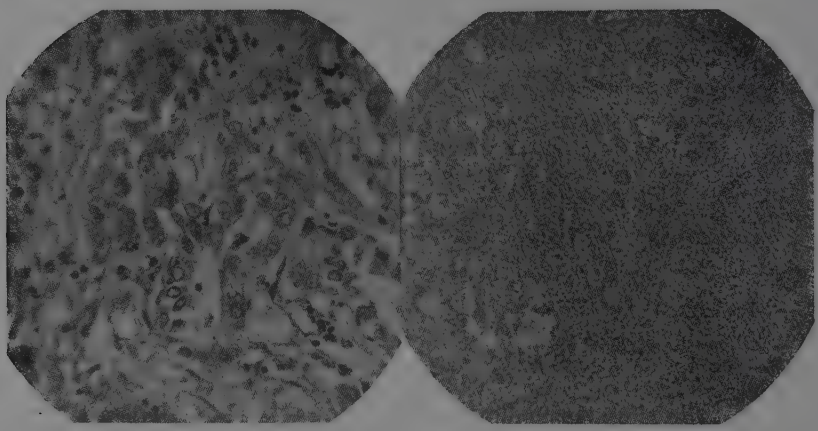


Fig. 15 — Aumento 95 vezes.

Fig. 16 — Aumento 450 vezes.

8.º caso A. 5.095 — Dr. C. B. Magarinos Torres.

A. S., masculino, carpinteiro, 55 anos de idade, espanhol, branco.

Diagnóstico anatômico: Carcinoma do stômago, (região do cárdia, estendendo-se para o esôfago). Metástases no baço, fígado e gânglios linfáticos regionais. Tuberculose ulcerativa crônica do lobo superior do pulmão direito, Atrofia do fígado e peri-hepatite crônica. Caquexia.

Baço mede 9 x 6 x 2,5 cm e pesa 160 g. A cápsula é espessada em alguns pontos. A superfície do corte e de côr vermelho-escura, tecido conjuntivo muito mais aparente que o normal, tecido linfóide reconhecível. A polpa não é difluente.

Estômago apresenta em tôrno do cárdia, uma massa irregular, friável, de côr branca amarelada, com manchas róseas, de aspecto anfractuoso. As por-

ções da parede do estômago que estão em contacto com esta formação, dilaceram-se com relativa facilidade. Esta massa atravessa o cárdia e invade o esôfago numa extensão aproximada de 5 cm. O piloro é completamente livre. A superfície exterior do estômago, correspondente a esta formação, apresenta aderências anormais com o colon transverso, baço e pâncreas. O baço nesta região, é invadido por tecido de consistência firme e de aspecto fibroso.

CASO N. 9

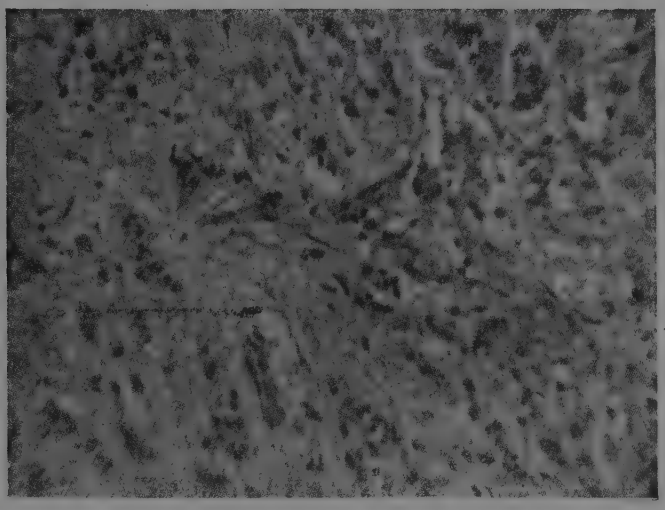


Fig. 17 — Aumento 350 vezes.

Ao exame microscópico, a cápsula apresenta-se regularmente espessada. Trabéculas de espessura normal. Notam-se os seios venosos congestos e os folículos linfóides bem conservados. Evidente hialinose das arteríolas peniciladas. Em uma das extremidades do corte existe neoformação de tecido de natureza epitelial, constituído por células atípicas conferindo ao tumor, aspecto glândular. (Figs. 15 e 16). Em alguns preparados microscópicos, são vistos folículos tuberculosos característicos.

9.º caso 6.584 — A. Penna de Azevedo — 25-5-1934.

A. F. A., masculino, trabalhador, 30 anos de idade, português, branco.

Diagnóstico anatômico : Carcinoma do estômago com metástases no baço, no fígado, na suparrenal direita e nos gânglios do hilo dos pulmões. Atrofia do coração. Bronco-pneumonia tuberculosa do pulmão direito.

Baço mede 8 x 6,5 x 4 cm. Pesa 85 g. Sôbre a cápsula existe um nódulo constituído por tecido branco-amarelado, superfície do corte de côr vermelho-escura, de consistência firme.

Estômago é sede de acentuada proliferação de tecido estranho, o qual se localiza preferentemente na região pilórica, invadindo tambem a pequena curvatura em grande extensão. Na parte central dêste tecido néo-formado, ocorre forte desintegração das estruturas. O tecido estranho é de côr branco-amarelada, friável e abundante.

Ao exame microscópico, cápsula e trabéculas conjuntivas apresentam espessura normal. Discreta dilatação dos seios venosos; folículos linfóides pouco desenvolvidos; hialinose pronunciada das arteríolas peniciladas.

Em alguns cortes, nota-se a proliferação de tecido de estrutura epitelial, de células atípicas, formando aglomerados celulares na espessura de abundante proliferação conjuntiva. (Figura 17).

CONCLUSÕES

Em material arquivado na Secção de Anatomia Patológica, do Instituto Oswaldo Cruz, encontramos nove necropsias em que se observam metástases de blastomas malignos no baço. Em quatro casos, a lesão pôde ser reconhecida ao exame macroscópico e nos demais, somente após a realização do exame histológico.

Dêstes blastomas, três são adenocarcinomas originários do pâncreas (casos 1, 3 e 5); três carcinomas primitivos do estômago (casos 7, 8 e 9); um adnocarcinoma da vesicula biliar (caso 2); 1 adenocarcinoma originário da glândula mamária (caso 4); e finalmente um adenocarcinoma primitivo do colon (caso 6).

A incidência das metástases observadas no baço dentre o total de 6.400 recropsias estudadas, é de 0,14%; a mesma incidência entre os casos de blastomas epiteliais é de 1,8%.

SUMMARY

Among the material of the archives of the Pathological Section of the Oswaldo Cruz Institute (Rio de Janeiro, Brasil) we found 9 cases of cancer metastasis in the spleen. Four of them were macroscopically apparent, but five had only been diagnosed microscopically.

Of these cases of tumors, 3 are adenocarcinoma originated from the pancreas (cases 1, 3, 5,); 3 are primary carcinoma of stomach (cases 7,8 and 9); 1 adenocarcinoma of gall-bladder (case 2); 1 orginated from the mammary gland (case 4) and finally 1 from the colon. (case 6.).

The incidence of the metastasis observed in the spleen among the total of 6.400 studied autopsies is of 0,14 %; The same incidence among those of epithelial blastomata is of 1,8 %.

BIBLIOGRAFIA

ASCHOFF, L.

1936. Pathologische Anatomie — Jena Verlag G. Fischer.

CHALATOW, S. S.

1914. Zur Frage uber metastatiche Geschwulsbildung in der Milz. Virch. Arch. 217 : 140-160.

DIAL, D.

1930. Metastatic carcinoma in the spleen. Am. J. of Path. 6 : 79-83.

DI BIASI, W.

1926. Uber Krebsmetastasen in der Milz. Virch. Arch. 261 : 885-918.

GEIPEL, P.

1912. Uber metastatiche Geschwulsbildung in der Milz. Virch. Arch. 210 : 358-364.

KRAFT, R.

1926. Uber die Rolle der Milz im Krankheitsbilde der perniziosen Anamie. Deutsch. Ztschr. f. Chir. 190 : 102-109.

LUBARSCH, O.

1927. in Henke, F. & Lubarsch, O. Hand. d. spez. path. Anat. und Histologie. 1 : 713-718.

SAPPINGTON, S. W.

1927. Carcionoma of the spleen. J. A. M. A. 78 : 953-955.

WARREN, S. & ROBSON DAVIS, A.

1934. Studies on Tumor Metastasis. The Am. J. of Cancer. 21 : 517-533.

YOKOHATA, T.

1927. Uber der mikroskopichen Krebsmetastasen in der Milz. Ztschr. F. Krebsforsch. 25 : 32-61.

Um foco potencial de Tripanosomíase Americana na Cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal)

por

F. Nery Guimarães e Geth Jansen

(Com 9 figuras, 2 estampas, um mapa e um quadro)

Em novembro de 1942, incumbidos de proceder a pesquisas sôbre Tripanosomíase Americana na Cidade do Rio de Janeiro, onde em épocas diversas tinha sido verificada acidentalmente a presença de Triatomídeos (*), apresentamos ao Diretor do Instituto o seguinte plano de trabalho:

> "Serão consideradas zonas de pesquisas os trechos silvestres habitados dos diversos bairros: Santa Teresa, Tijuca, Corcovado, Gávea, Cantagallo, Alto da Boa Vista, etc.
>
> No programa dos trabalhos, serão considerados os principais fatores epidemiológicos da moléstia:
>
> 1) Parasito; 2) transmissores; 3) depositários silvestres do parasito; 4) depositários domésticos do parasito (cães, gatos); e 5) indivíduos doentes.
>
> I. As pesquisas quanto ao parasito, compreenderão: *a*) isolamento de amostras de *T.* (*S.*) *cruzi* (de transmissores, de depositários e de doentes); *b*) Estudo da virulência para os animais de laboratório; *c*) culturas em meios de Nöller, N. N. N. e outros; *d*) comportamento no organismo dos depositários e dos doentes.
>
> II. As pesquisas quanto aos *transmissores,* compreenderão:
>
> *a*) Pesquisa domiciliar de triatomídeos, em tôdas as suas fases evolutivas; *b*) Pesquisa extradomiciliar de triatomídeos, visando o encontro de focos silvestres de criação.

(*) O pranteado Prof. Arthur Neiva, já em 1920 encontrara na rua São José, no centro da cidade, um exemplar de *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1775). (Comunicação pessoal). Para o Distrito Federal, Neiva & Lent, em 1941 (Rev. de Entomologia. 12 (1-2): 61-92) assinalam as seguintes espécies: *T. rubrofasciata, P. geniculatus, T. vitticeps, E. oswaldoi.*

* Recebido para publicação a 26 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

As pesquisas de criadouros silvestres de "barbeiros" deve ser feita sobretudo em pontos já conhecidos como focos de criação: buracos de árvores, tocas de animais silvestres, ninhos de aves, etc. Serão feitas também capturas noturnas com luz forte.

III. As pesquisas quanto aos *depositários* do *T.* (*S.*) *cruzi*, compreenderão: *a*) exame de sangue, a fresco e após coloração (gota espessa) de diferentes animais silvestres, particularmente aqueles já conhecidos como reservatórios do parasito (gambás, tatús, tamanduás, morcegos, etc.) e também de animais domésticos (cães e gatos); *b*) aplicação do xenodiagnóstico nos mesmos animais.

IV. As pesquisas quanto aos *doentes*, constarão de: *a*) exame de sangue a fresco e após coloração (gota espessa), de pessoas encontradas ao exame clínico, com sintomas atribuíveis à moléstia de Chagas; *b*) aplicação do xenodiagnóstico e realização do electrocardiograma dos mesmos".

Imediatamente os trabalhos foram iniciados por Santa Teresa, populosa zona residencial montanhosa, situada próxima ao centro da cidade, onde até presentemente continuam as pesquisas, as quais foram um tanto prejudicadas pela estação chuvosa e pela viagem de um de nós ao nordeste do país. Todavia os estudos feitos merecem ser referidos, posto que permitem algumas conclusões. Neste bairro, em outubro do ano passado, um de nós (G. J.) capturara na terrasse do Edifício Raposo Lopes, um exemplar de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835).

Vejamos primeiramente os estudos realizados quanto aos Transmissores:

Como se sabe, todo o bairro é cercado e cortado par trechos florestais, onde, mesmo aí, existem esparsas habitações primitivas, algumas delas tipo "cafua". Na pesquisa domiciliar de Triatomídeos, foram estas as casas visadas principalmente, por oferecerem condições propícias ao desenvolvimento dos insetos. Entretanto, algumas casas antigas e outras de bom aspecto também foram examinadas. O mapa — 1 mostra a distribuição dêsses domícilios na zona estudada. Foram examinadas 40 "cafuas", sendo a pesquisa negativa para Triatomídeos em qualquer de suas fases evolutivas. Não foram encontrados mesmo nem vestígios dêstes insetos (fezes, exuvias). A procura intensiva dos "barbeiros" nesses domícilios foi extensiva aos galinheiros, chiqueiros e outros abrigos de animais domesticos. De algumas "barracas", colchões velhos foram removidos para o exterior para procura mais eficiente e, pelo mesmo motivo, trechos de paredes velhas foram demolidas.

No Edifício Raposo Lopes (fig. n. 2), em datas diversas desde o início dos trabalhos no local, capturamos ou nos foram entregues pelo seu proprietário ou auxiliares, 11 exemplares de *Panstrongylus megistus* (6 fêmeas e 5 machos). Imediatamente foi afastada a hipótese dêsses insetos terem sua origem no prédio em questão. Com efeito, os fatos observados mostraram que êles provinham da mata circundante. Neste prédio, segundo nos foi informado, em vários apartamentos de diversos andares os mesmos insetos foram encontrados (um deles que nos foi entregue está incluído na lista acima). Sendo o

Fig. 1 — Grupo de "cafúás" existentes em Sta. Tereza, junto à mata, nas quais foi pesquisada a presença de Triatomideos com resultado negativo. Vista tomada da R. Almte. Alexandrino. Em cães pertencentes às mesmas foi feito o xenodiagnostico com resultado negativo.

único arranha-céu naquele trecho, domina toda a mata circundante. Acresce que é pintado de claro e muito bem iluminado á noite. Positivamente, numerosos e diferentes insetos a êle vêm ter, inclusive os "barbeiros". É possível que em algumas das grande residências bem iluminadas da redondeza (vide mapa) sejam também encontrados acidentalmente êsses Triatomideos mas, seja dito de passagem, que nenhuma delas oferece as condições descritas para o Edifício Raposo Lopes.

Uma vez verificada a ausência de focos de criação domiciliar de Triatomídeos na zona estudada, empreendemos a procura nos trechos florestais vizinhos, tendo em vista preferentemente os ninhos de aves, morcêgos e animais silvestres, entre êstes particularmente marsupiais, que logo descobrimos ser um depositário do *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi* no local. A pesquisa assim orientada e prosseguida meses a fio, não permitiu ainda localizar de maneira indiscutível os criadouros dos "barbeiros" aí encontrados. Todavia, num ninho de

Fig. 2 — Edifício no qual foram capturados exemplares de *Panstrongylus megistus* infectados pelo *Trypanozoma* (*S.*) *cruzi*. Circundado pela mata e bem iluminado, é invadido por diferentes insetos entre os quais o "barbeiro". Os fócos de criação dêste último está localizado na mata, provavelmente em ninhos de gambás (*D. marsupialis*).

gambá (*D. marsupialis*) foi encontrada uma casca de ovo de Triatomídeo que pode ser relacionada ao *P. megistus* (*) (Est. 1). Em ninhos dêste mesmo animal e também de ratos silvestres, localizados em palmeiras (*Attalea indaya*, Dr.) foi encontrado um novo "barbeiro" (*Parabelminus carioca*, LENT 1943), outro transmissor natural do *T.* (*S.*) *cruzi*, o que foi objeto de uma

(*) Um exemplar desta mesma espécie foi capturado também em Paineiras no caminho do Corcovado. Não foi possível verificar-se a infestação dêste espécime por ter chegado sêco ao Instituto.

nossa publicação anterior (*Mem. do Inst. Oswaldo Cruz*, 38 (3) : 437-441, 1943). A biologia dêste inseto, que está sendo estudada presentemente, será publicada em seguida. Em tôdos os focos de criação de *P. carioca* encontrou-se um interessante predador, o qual está sendo estudado na Divisão de Zoologia Médica do Instituto.

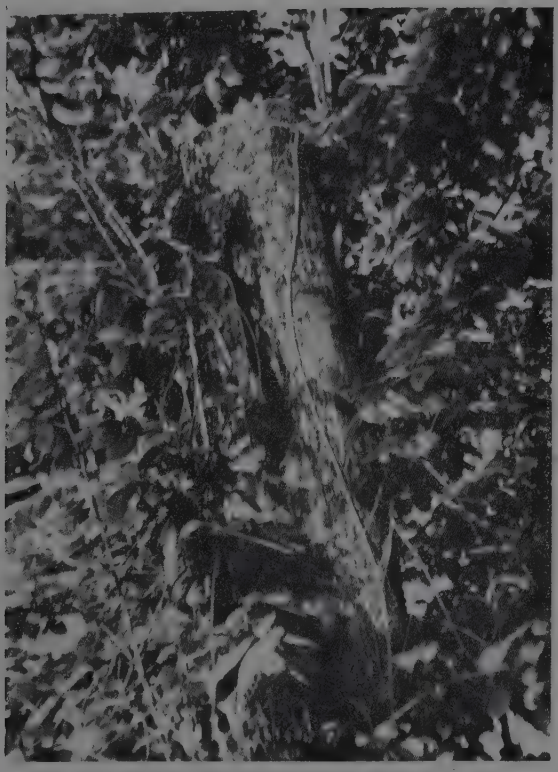


Fig. 3 —Ôco de árvore constituindo um ninho de gambá (*D. marsupialis*, o qual foi aí capturado. Está localisdo junto da Rua Alnite. Alexandrino.

Os estudos feitos quanto aos depositários silvestres do parasito, foram os seguintes :

As matas adjacentes a zona estudada são palmilhadas pelos moradores pobres locais, muitos dêles tendo suas "barracas" localizadas no meio da floresta, onde se suprem de lenha. Como é fácil de se deduzir, a fauna silvestre é muito reduzida compreendendo segundo informações locais: gambás,

saguís, preás, caxinguelês e ratos silvestres. Os tatus são muitos raros. Nada obstante termos conseguido o auxílio de pessoas locais, e estatuído o regime de compra, conseguimos examinar apenas gambá, cuíca, morcego e ratos silvestres. Dêstes últimos, em dois exemplares de uma espécie que aguardamos determinação, foi feito exame direto do sangue com resultado negativo mas, por não ter sido feito xenodiagnóstico e serem apenas dois espécimes, isto

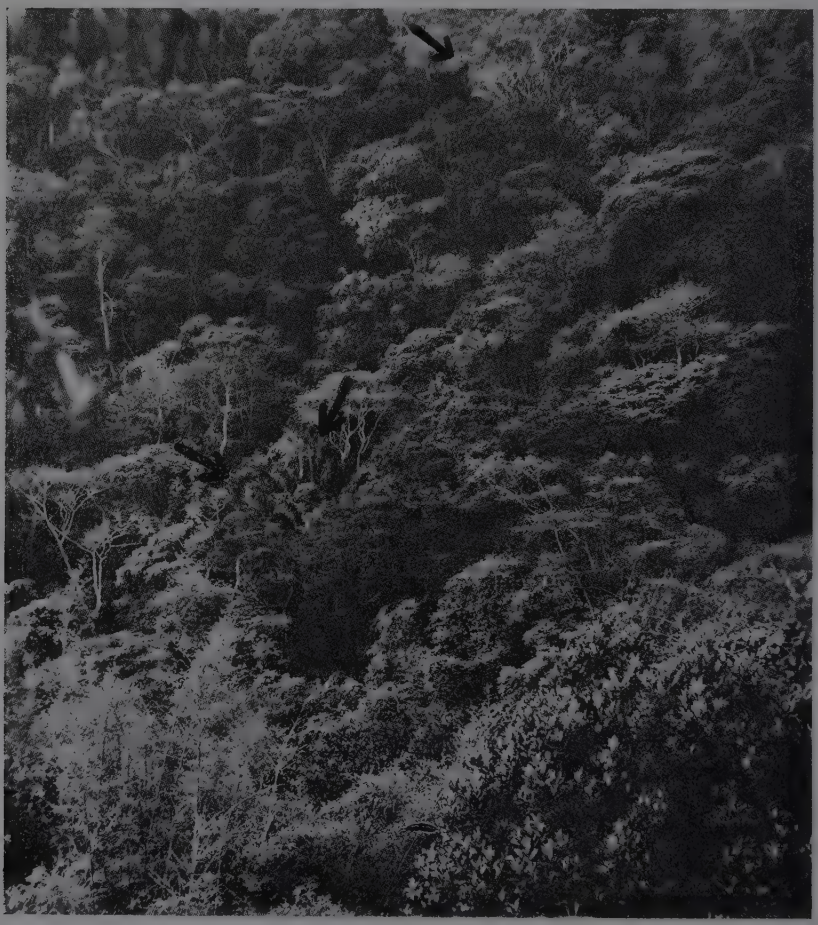


Fig. 4 — Trecho da mata existente na zona em estudo. Aparecem 2 palmeiras (*Attalea indaya Dr.*) nas quais são encontrados ninhos de gambás. (*D. marsupialis*) e fócos de criação de *Parabelminus carioca* Lent, 1943, novo transmissor do *T.* (*S.*) *cruzi*, descoberto pelos autores no local das pesquisas.

não tem muita significação. Êstes roedores são muito importantes por haver probabilidade de serem também depositários do *T.* (*S.*) *cruzi*, posto que em seus ninhos também foi encontrado *P. carioca*.

Foi examinado o sangue a fresco e feito o xenodiagnóstico de dois morcegos (*Artybeus jamaicensis lituratus*) apanhados no local, com resultado negativo.

Foto *Miguel Cezar*.

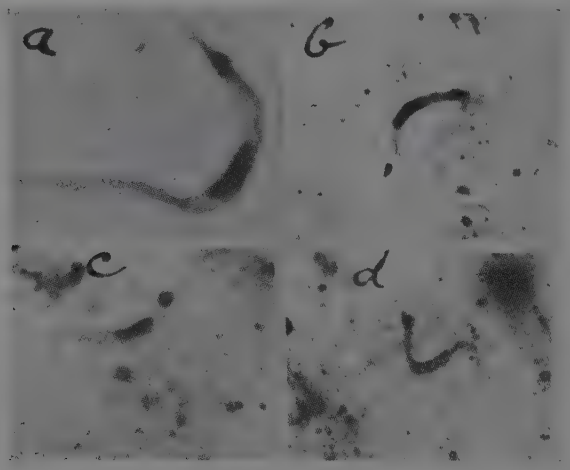
Fig. 5 — Exemplar de gambá (*D. marsupialis*) naturalmente infectado pelo *T.* (*S*) *cruzi* e capturado na zona estudada. Aproximadamente 1/3 do tamanho natural.

Os gambás examinados pertencem ao genero *Didelphis marsupialis L.* (*) (fase preta e fase bicolor). Na maior parte, foram adquiridos dos moradores locais, que os capturaram por meio de armadilhas próprias. Em menor número, foram encontrados em seus ninhos. Êstes eram localizados: duas vezes em ôco de árvore, uma vez na copa de árvore de grande porte e seis vezes em palmeiras (*Attalea indaya* Dr.). Os ninhos são feitos de galhos e fôlhas secas, superpostos, e neles se abrigam diferentes insetos. Foram examinados 46 gambás, sendo que em quatro exemplares foi feito apenas o exame direto do sangue a fresco. Dos 42 exemplares, nos quais foram feitos

(*) A determinação dos marsupiais devemos à gentileza de D. Heloisa Alberto Torres, Diretora do Museu Nacional, e a dos morcegos à do Dr Cavalcanti Proença. A ambos aqui deixamos consignados nossos agradecimentos.

o exame direto do sangue e também o xenodiagnóstico, 15 foram encontrados naturalmente infectados pelo *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* Chagas 1909. Dêstes 15, quatro tinham sido negativos pelo exame direto do sangue.

Foi examinado um único exemplar de "cuíca" (*Metachirus nudicaudatus* Geoffroy) o qual foi negativo ao exame direto do sangue, mas o xenodiagnóstico foi positivo. Êste marsupial ainda não tinha sido referido anteriormente como depositário do *T.* (*S.*) *cruzi*. Os esforços dispensados para conseguir outros espécimes desta "cuíca" foram infrutíferos. Elas devem ser muito raras no local.

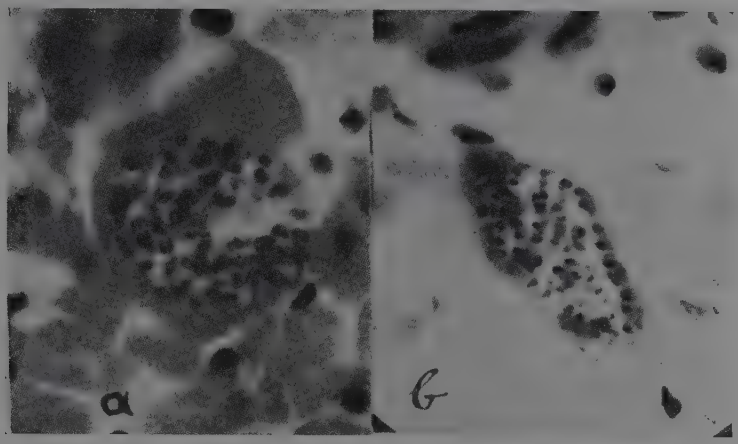


Microfotos de *M. Cesar* e *J. Fontes*.

Fig. 6 — Tripanosomas metacíclicos nas fézes de 4 dos *P. megistus* encontrados com infestação natural pelo *T.* (*S.*) *cruzi* no local estudado. *a* — aumentado 2.000 XX; *b*, *c*, *d* — aumentados 1.500 XX.

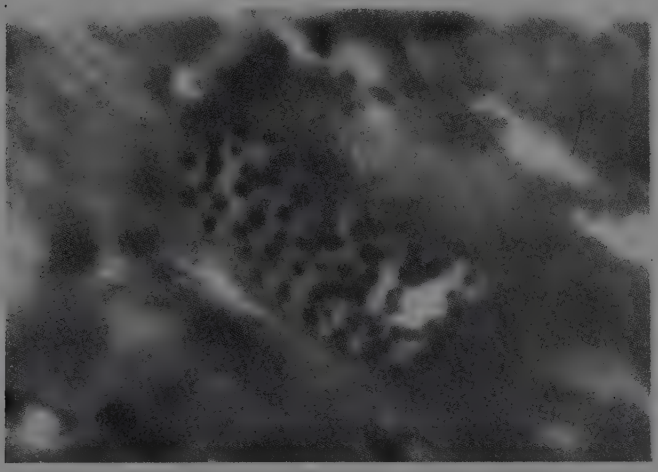
No que diz respeito às pesquisas realizadas sôbre os depositários domésticos, foi examinado o sangue à fresco e feito o xenodiagnóstico de dois gatos e 19 cães pertencentes aos moradores das "cafuas" da zona estudada (Vide mapa 1). O número de cães representa cerca de 50 % dos existentes nas habitações referidas. Todos êsses exames foram negativos.

Por ter sido negativa a pesquisa domiciliar de "barbeiros", foi feito somente um exame clínico sumário de 58 habitantes locais, inclusive quatro pessoas de uma família oriunda do interior do Estado de Minas Gerais. Foram



Microfotos de *J. Fontes*.

Fig. 7 — Córtes de miocardio de gambás (*D. marsupialis*) naturalmente infectados pelo *T.* (*S.*) *cruzi*. Vêem-se numerosos corpusculos leishmaniformes em ativa multiplicação no interior de fibras cardiacas: *a* (gambá n. 1) aumentado 1.400 vezes; *b* (gambá n. 106) aumentado 950 vezes.



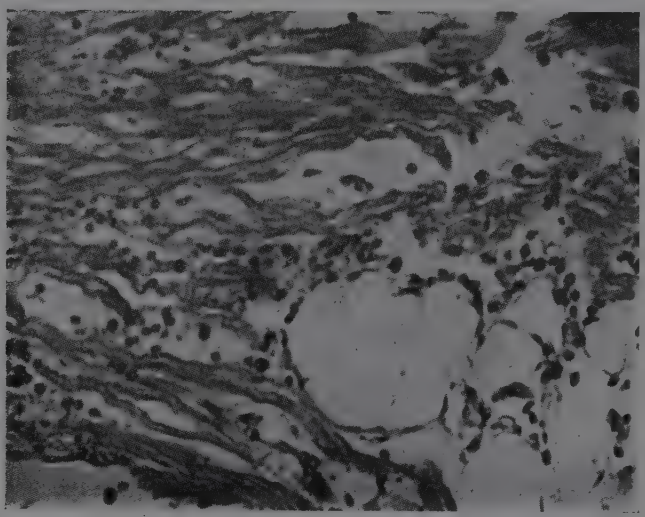
Microfoto de *J. Fontes*.

Fig. 8 — Córte de coração do cobaio n. 30 inoculado com a amostra "gambá" de *T.* (*S.*) *cruzi*. Cistos de leishmanias em multiplicação numa fibra cardiaca. Aumentado 1.600 vezes.

encontradas apenas duas crianças com sintomas atribuíveis a doença de Chagas (febre e edemas faciais e dos membros inferiores), mas o xenodiagnóstico foi negativo.

Os "barbeiros" normais empregados nos xenodiagnósticos (*T. infestans, P. megistus, R. prolixus*) foram obtidos nas criações da Divisão de Endemias do Instituto.

No que diz respeito as pesquisas sôbre o parasito, foi realizado o seguinte:



Microfoto de *J. Fontes*.

Fig. 9 — Córte de coração do cão n. 20 inoculado com a amostra "gambá" de *T.* (*S.*) *cruzi*. Vê-se um fóco de miocardite. Aumento — 340 diâmetros.

Dos 11 exemplares de *P. megistus* capturados no local, 9 encontravam-se infectados pelo *T.* (*S.*) *cruzi*, o que dá um índice de 0.82. De cinco dos insetos infectados, foram feitas inoculações em animais, transmitindo-se a infecção a cães e cobaias. Camondongos (*Mus musculus*, var. *albina*) inoculados não apresentaram parasitos no sangue periférico.

De 10, dos 15 marsupiais (*D. marsupialis*) encontrados com infecção natural, foram isoladas as amostras de *T.* (*S.*) *cruzi* por inoculações experimentais. Por sub-inoculações esta amostra "gambá" está sendo mantida no laboratório. As espécies animais infectadas com a mesma, foram as seguin-

tes: rhesus, cão, gato e cobaia (Vide quadro 1) sendo que mesmo destas espécies, nem todos os exemplares inoculados se infectaram, o que se pôde afirmar controlando-se pelo xenodiagnóstico. Um bode (*Capra hircus*) continuou refratário, mesmo após inoculações de doses maciças de fezes de "barbeiros" com alta infestação experimental.

Os camondongos mesmo inoculados com culturas, comportaram-se conforme a verificação de Galliard, confirmada entre nós por Dias: inoculados mesmo por via sub-cutânea, apresentaram uma infecção peritoneal, enquanto que no sangue os parasitos não eram despistáveis pelo exame direto, mas sim pelo xenodiagnóstico.

Apenas um animal (cobaio n. 110) dos inoculados, positivos, mostrou riqueza de tripanosomas no sangue periférico (dois a três por campo), assim mesmo inconstante. De modo geral, as infecções eram leves, havendo mesmo ocasião em que o exame direto era negativo. O rhesus n. 28, após dois meses de infecção controlada qause que diàriamente, não mais apresentou tripanosomas no sangue circulante, enquanto que xenodiagnósticos realizados depois dêsse período e até recentemente, ainda afirmavam a existência dos hemoflagelados.

Os cortes dos marsupiais que morreram com infecção natural, mostraram acumulos de leishmanias no coração, sendo vistos ligeiros focos infiltrativos.

Os animais que morreram com infecção experimental, apresentaram miocardite, sendo esta mais intensa nos cães. (figs. 9..). Os acúmulos de leishmanias no miocárdio, não eram abundantes. Apenas num cão, eram muito frequentes.

Por semeadura de sangue em meio de Nöller e NNN foram isoladas as amostras "bambá" e "cuica" do *T.* (*S.*) *cruzi.*

Triatoma infestans e *Rhodnius prolixus* normais, se infectaram com a amostra "cuíca" do *T.* (*S.*) *cruzi,* a qual se mostrou patogênica para cães e cobaios e está sendo mantida no laboratório.

Estudos comparativos destas amostras serão feitos posteriormente.

Agradecimento. Aos nossos auxiliares no Instituto, Srs. Nilzo de Oliveira e Waldemar Campos da Paz, queremos externar nossos agradecimentos pela valiosa colaboração prestada.

RESUMO E CONCLUSÕES

São relatados estudos epidemiológicos feitos em um foco potencial de Tripanosomiase americana no bairro Santa Teresa na Cidade do Rio de Janeiro.

Enquanto a pesquisa intensiva de Triatomídeos em 40 "cafuas" existentes em áreas silvestres do local foi negativa, 11 exemplares (seis fêmeas e cinco machos) de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) foram capturados em um grande edifício do local, estando nove infectados pelo *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi*. Positivamente, tais insetos aí vieram ter atraídos pela grande iluminação dêsse edifício, seus focos de criação encontrando-se na mata. Não foi possível demonstrar de modo indiscutível tais criadouros em cuidadosas pesquisas feitas durante 10 meses. Todavia, em ninho de gambá (*Didelphis marsupialis*) foi achado uma casca de ovo de Triatomídeo, o qual pode ser atribuído ao *P. megistus*. Também em ninhos dos mesmos marsupiais e também de ratos silvestres foi descoberto um novo Triatomídeo (*Parabelminus carioca* Lent, 1943) novo transmissor do *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi*, e que foi motivo de uma publicação anterior.

De 42 exemplares de gambás (*D. marsupialis*) submetidos ao exame direto do sangue e ao xenodiagnóstico, 15 (ou seja 35.7 %) mostraram-se naturalmente infectados pelo *T.* (*S.*) *cruzi*. Dêstes quinze, quatro foram negativos ao exame direto de sangue, mas positivos ao xenodiagnóstico.

Outro marsupial (*Metachirus nudicaudatus* Geoffroy), antes ainda não referido como depositário silvestre do *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi*, foi verificado com infecção natural pelo xenodiagnóstico.

A amostra "gambá" de *T.* (*S.*) *cruzi*, mostrou-se patogênica para cão[a] rhesus, gato e cobaio. Foi possível cultivá-la em meios de Nöller e NNN.

A amostra "cuica" foi capaz de infectar cão e cobaio e também foi cultivada.

A amostra "panstrongylus" também infectou cão e cobaio.

Camondongos (*Mus musculus*, var *albina*) inoculados com qualquer uma das amostras, não apresentaram infecção sanguínea apreciável ao exame direto, enquanto que exibiam uma infecção peritoneal.

Exame clínico sumário de 58 indivíduos residentes no local, permitiram o encontro de duas crianças com sintomas atribuíveis à doença de Chagas, mas o xenodiagnóstico dêstes pacientes foi negativo. Exames de sangue à fresco e xenodiagnóstico de 19 cães (cêrca de 50 % dos existentes na zona estudada) foram negativos. Assim também de dois gatos.

A possibilidade de infecção humana pelo *T.* (*S.*) *cruzi* no local estudado, é remota, considerados os hábitos silvestres aí observados nos transmissores. Porém, uma vez que aí existem depositários naturais abundantes dêsse tripanosoma, e também transmissores com alto índice de infestação, é possível a ocurrência de casos clínicos da moléstia, tanto mais quando se recorda que *P. megistus* tem geralmente habitos domiciliares em outras regiões do País,

QUADRO I — LISTA GERAL DOS ANIMAIS COM INFECÇÃO EXPONTÂNEA E EXPERIMENTAL

ANIMAIS COM INFECÇÃO EXPONTANEA			ANIMAIS INOCULADOS									
			COM SANGUE					COM FEZES DE "BARBEIROS" DE XENO				
Espécie	Positivo ao exame direto	Positivo ao xeno-diagnóstico	Espécie	Positivo		Negativo		Espécie	Positivo		Negativo	
				Ex. direto	Xeno	Ex. direto	Xeno		Ex. direto	Xeno	Ex. direto	Xeno
Gambá (*D. marsupialis*) n. 1	+	+	Cobario n. 11 Camondongo n. 23 n. 23 Camondongo Cão n. 24	+ + +	+ +	 —	 	Rhesus n. 28 Caobio n. 101 Cão n. 17	+ + +	+ + +	 	
Gambá n. 2	+	+	Camondongo n. 5 Camondondo n. 5	+p 	+ 	 —	 	Cão n. 20	 	 	—	
Gambá n. 26	+	+	Camondongo n. 42 Cobaio n. 30	 	 	— +	 +	—	 	 	 	
Gambá n. 29	+	+	Camondongo n. 38 Camondongo n. 39 Cobario n. 37	 +p 	 + 	— —	— —	—	 	 	 	
Gambá n. 34		+	—					Morcêgo n. 16 Cobaio n. 108 Camondongo n. 49	 +p	 	— —	— —
Gambá n. 40	+	+	—					Bode n. 10			—	—
Gambá n. 66	+	+	—					Cobaio n. 134	+	+		
Gambá n. 71		+	Cobaio n. 107			—	—	Cão joven n. 135 Cobario n. 165 Cobaio n. 172	 + +	+ + 	 —	
Gambá n. 72		+	—					—				
Gambá n. 75	—	+	—					Cobaio n. 144 Cobaio n. 171	+ 	+ 	— 	 —
Gambá n. 77	+	+	Cobaio n.110	+	+			Cão joven	+	+		
Gambá n. 79	+	+	—					Cobaio n. 129			—	—
Gambá n. 80	+	+	Cobaio n. 86					Cobaio n. 143 Cobaio n. 174 Cobaio n. 175	+ + +	+ + +		
Gambá n. 81	+	+	—					Cobaio n. 127			—	—
Gambá n. 106	+	+	—					Cobaio n. 142			—	—
Cuica (*M. nudicaudatus*) n. 70		+	—					Cobaio n. 140 Cobaio n. 145 Cobaio n. 150 Cobaio n. 151 Cobaio n. 151	+ + + + +	+ + + + +		
Totais												

+p = infecção peritoneal.

fàcilmente podendo adaptar-se às "cafuas" existentes no local. Por outro lado, a presença aí de famílias oriundas de zonas de endemia (Minas) poderá ainda apressar a existência de condições domésticas de contágio.

SUMMARY

The autors described a potencial focus of american trypanosomiasis in Santa Tereza, populous residencial zone, situated near of the center of Rio de Janeiro city.

Fifteen specimens of opossum (*Didelphis marsupialis* L;) were found naturally infected with *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* (Chagas 1909). A variety of opossum (*Metachirus nudicaudatus* Geoffroy), was referred to also, by the first time, as wild host of these trypanosomes.

Eleven specimens of triatoma (*Panstrongylus megistus* (*Burmeister* 1835), from whom nine infected, were captured in a large building situated in the same local.

Careful inquiry realized in the local, on permitted to affirm that the breeding-places of these triatomoe, were localized in the forest. In these there, exists poor habitations, in which the occurrence of accidental clinical cases of Chagas' disease is possible.

ESTAMPA 1

Exemplar femea de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) capturado em Santa Tereza na zona em estudo e naturalmente infestado pelo *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi*. Aumentado 3,3 vezes. (Fotografia do vivo).

Em baixo, à direita: *a* — casca de ôvo provavelmente de *P. megistus*, encontrado no local em estudo, num ninho de gambá (*D. marsupialis*); *b* — casca de ôvo de *Parabelminus carioca* Lent, 1943, tambem colhido em ninho dêsse marsupial; *c* — casca de ôvo do exemplar de *P. megistus* que aparece na estampa. As três foram fotografadas lado a lado. Fotos de J. Fontes.

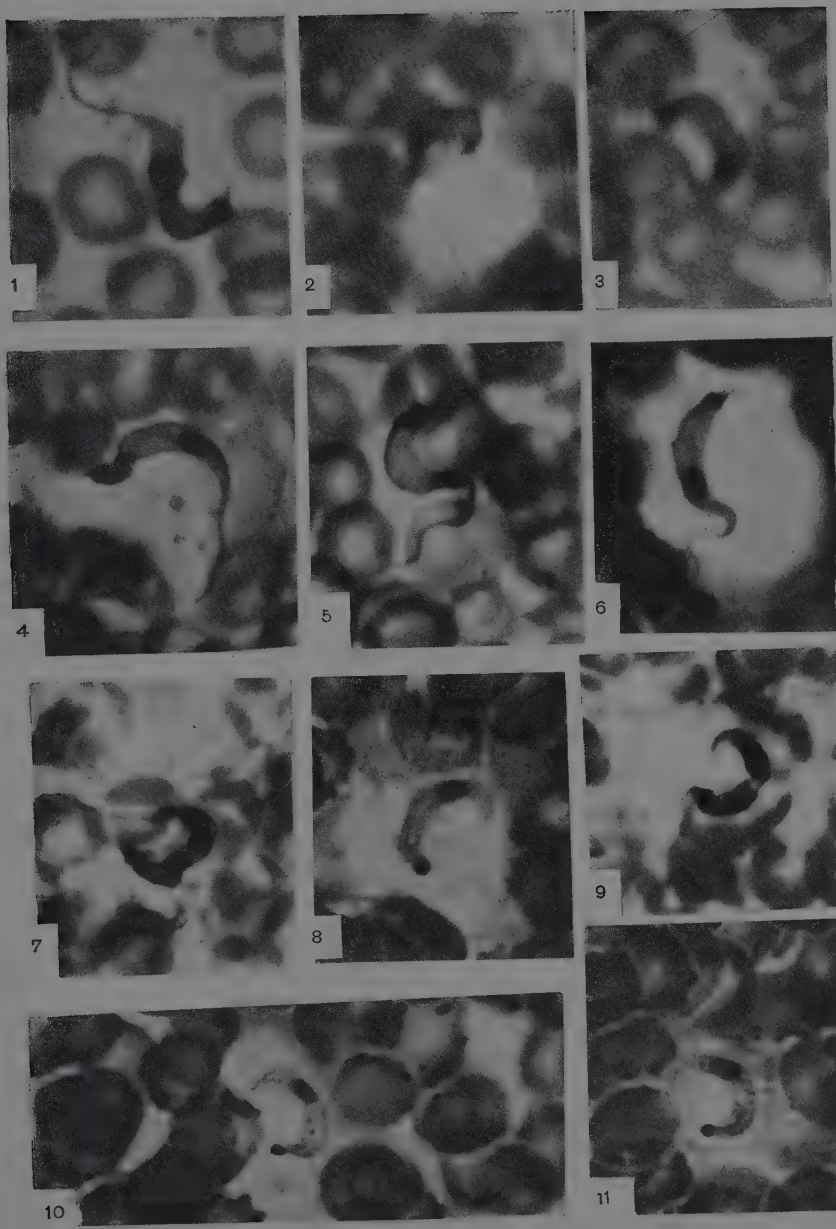
Guimarães e Jansen

ESTAMPA 2

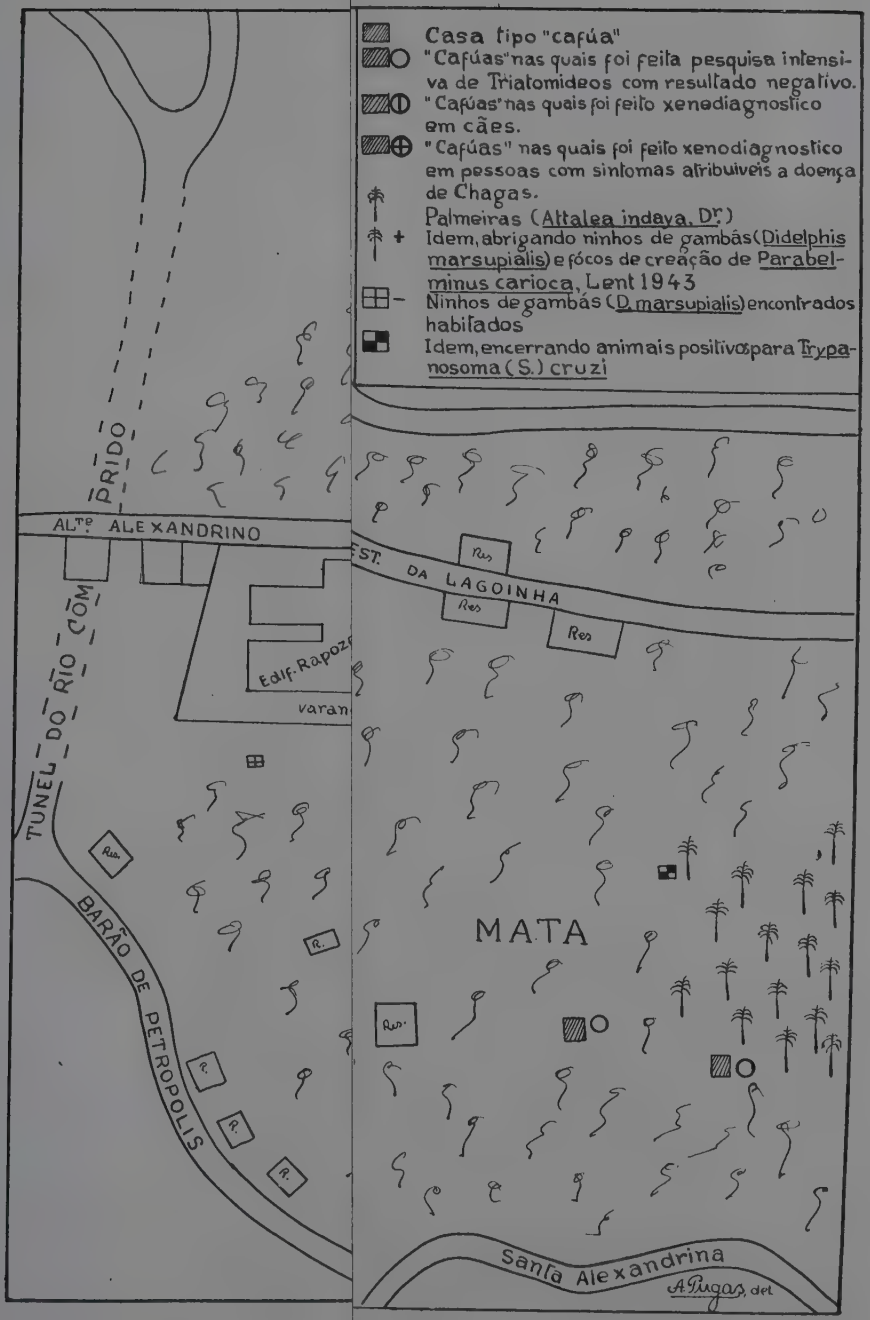
Figs. 1 a 6 — *T.* (*S.*) *cruzi* no sangue periférico de cobaios inoculados com fezes de *P. megistus* encontrados naturalmente infectados no local dos trabalhos. Microfotos de J. Fontes.

Figs. 7 — *T.* (*S.*) *cruzi* no sangue periférico do cobaio n. 140 inoculado com fezes de "barbeiros" de xenodiagnóstico da "cuica" (*Metachirus nudicaudatus*) verificada como novo depositário dêsse tripanosoma. Microfoto de J. Fontes.

Figs. 8 a 11 — *T.* (*S.*) *cruzi* no sangue de cobaios inoculados com sangue e "barbeiros" de xenodiagnóstico de gambás encontrados com infecção natural. Microfotos de J. Fontes.



Guimarães e Jansen


Casa tipo "cafúa"
"Cafúas" nas quais foi feita pesquisa intensiva de Triatomideos com resultado negativo.
"Cafúas" nas quais foi feito xenodiagnostico em cães.
"Cafúas" nas quais foi feito xenodiagnostico em pessoas com sintomas atribuiveis a doença de Chagas.
Palmeiras (Attalea indaya, Dr.)
Idem, abrigando ninhos de gambás (Didelphis marsupialis) e fócos de creação de Parabelminus carioca, Lent 1943
Ninhos de gambás (D. marsupialis) encontrados habitados
Idem, encerrando animais positivos para Trypanosoma (S.) cruzi
PRADO
ALTº ALEXANDRINO
EST. DA LAGOINHA
Edif. Rapoz
TUNEL DO RIO COM
BARÃO DE PETROPOLIS
MATA
Santa Alexandrina
A. Pugas, del.

ÁTICAS

Emprêgo do teste químico para o estudo da eliminação das gonadotropinas durante o ciclo menstrual

por

Maria Isabel Mello

(Com três gráficos)

O conhecimento da eliminação normal das gonadotropinas durante o ciclo menstrual, ainda que de grande interêsse ginecológico, pouco tem sido estudado. Razões de ordem técnica e dificuldade na obtenção do material (urina de 24 horas durante um ciclo completo) tem dificultado tal empreendimento. Em geral os métodos, para isolamento e concentração das gonadotropinas, mesmo os mais simples, são demorados e dispendiosos. O número de camondongas necessário para a dosagem dos hormônios gonadotrópicos eliminados em um ciclo menstrual completo, é de quinhentas aproximadamente. Acresce ainda que a excreção de gonadotropinas é em alguns dias do ciclo, quase nula, e mesmo concentrando ao máximo o volume de urina das 24 horas, não se obtem uma resposta biológica satisfatória. Assim, é possível que sejam êstes os motivos responsáveis pelo pequeno número de trabalhos concernentes à eliminação das gonadotropinas durante o ciclo menstrual.

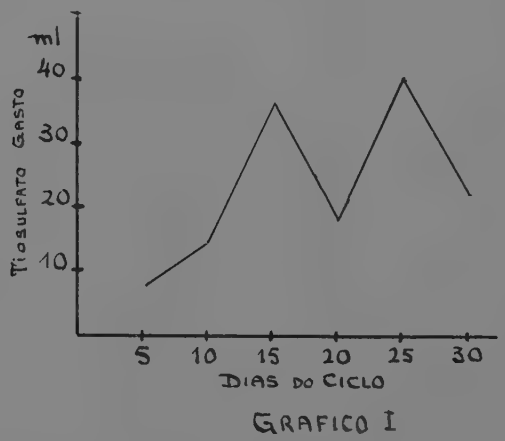
Quando estudámos o teste químico para o diagnóstico da gravidez, baseado na determinação química dos hormônios gonadotrópicos da urina (1), verificámos que as urinas de mulheres e homens normais quando concentradas e tratadas pelo mesmo método que as urinas gravídicas, continham também substâncias redutoras, o que nos levou a crer que o caolin adsorve também as gonadotropinas hipofisárias. Observámos, outrossim, que os resultados obtidos variam com urina de mulheres normais de um dia para outro. Relacionámos êste fato com o ciclo menstrual e passámos a estudá-lo cuidadosamente.

A técnica empregada neste trabalho difere em alguns detalhes daquela já descrita para o diagnóstico da gravidez: 1) A urina de 24 horas é coletada com 1 ml. de ácido acético glacial e conservada na geladeira; 2) Para adsorção das gonadotropinas tomam-se 100 ml. de volume total da urina em vez

* Recebido para publicação a 2 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

dos 10 ml. usados para a urina gravídica; 3) O adsorbato é eluído em 5 ml. da solução de soda O,1N, em vez de 10 ml.; 4) Quando a eliminação hormonal é quase nula e não há redução de substância oxidante, trabalha-se com o volume total do eluato; 5) Os resultados são expressos em ml. de tiosulfato gastos, porque não nos foi possível relacionar o número da ml. de tiosulfato consumidos com as unidades biológicas trabalhando com o mesmo material. Estamos presentemente estudando um meio para obter com o teste químico a rleação em unidades biológicas nos casos de eliminação normal das gonadotropinas.

A presente nota é baseada na determinação diária das gonadotropinas em 45 ciclos de 32 mulheres normais entre 21 e 39 anos (um mês antes e durante o tempo do ciclo em que coletaram a urina abstiveram-se de qualquer terapêutica hormonal ou vitamínica). A duração dos ciclos variou de 24 a 31 dias. Os estrogênios totais foram determinados em todos os ciclos no período intermenstrual. Empregâmos para a extração dos estrogênios a técnica de LEIBOFF e TAMIS (2) e para dosagem o já clássico teste de ALLEN e DOISY em camondongas castradas. Os valores encontrados para os estrogênios totais oscilaram entre 14 e 250 unidades camondonga. Dêstes ciclos, apenas 11 foram normais e com as médias das frequências acumuladas dos resultados obtidos traçámos o gráfico I.



Eliminação de gonadotropinas no ciclo menstrual normal

Como se pode observar no gráfico I houve 2 máximos de eliminação. Isto levou-nos a aventar a hipótese da ocurrência de 2 ovulações por ciclo,

hipótese esta já formulada por D'Amour, Funk e Liverman (3). Admitem êles que "ou a ovulação ocorre mais de uma vez durante o ciclo menstrual ou ela não depende diretamente do estímulo hipofisário".

Procurámos então verificar se os máximos obtidos nas nossas determinações correspondiam á ovulação, á excreção das gonadotropinas ou á presença de substâncias redutoras outras contidas na urina e que pudessem ser adsorvidas com os hormônios.

Os eluatos preparados das urinas nos dias de excreção máxima, foram injetados em lotes de 20 camondongas normais infantis em doses crescentes e assim testados pelo método de Aschheim e Zondek. Os animais tratados com os eluatos de urinas de 8° ao 12° dia do ciclo apresentaram aumento do útero, acentuada hiperemia das trompas e ligeiro aumento dos ovários. As camondongas injetadas com eluatos das urinas do 18° ao 23° dia do ciclo mostraram o trato genital, útero e trompas praticamente normais, e os ovários aumentados com folículos bem desenvolvidos e presença de corpo amarelo.

A observação destas respostas biológicas permite-nos supor que as frações folículo-estimulante e folículo-estimulante da célula intersticial ou fração luteinizante, são excretadas em dois períodos diferentes. Pesquisas ulteriores para a confirmação dêstes dados serão publicadas a seguir.

Os valores encontrados para os estrogênios eliminados no intermenstruo dos ciclos acima descritos foram tabelados no quadro I.

QUADRO I

Estrogênios totais eliminados no intermenstruo dos ciclos normais

N. de ciclos	Procedência da urina	Idade	Unidades camondonga em 24 horas
1	solteira	26	200
2	solteira	30	200-250
1	primípara	29	240
2	solteira	27	190-200
1	solteira	23	210
2	solteira	25	175-210
1	solteira	34	150
1	solteira	29	235

Em 28 ciclos a curva de excreção das gonadotropinas elevou-se entre o 6.° e 8.° dia, mantendo-se relativamente constante até o 17.° dia; do 18.° ao 19.° dia decresceu apresentando ligeiro aumento do 22.° ao 24.° dia. Êstes ciclos foram de 24-27 dias. O gráfico II, resultante das medias das frequências acumuladas de 17 destes ciclos põe em evidência os valores encontrados.

Eliminação das gonadotropinas nos ciclos menstruais anormais

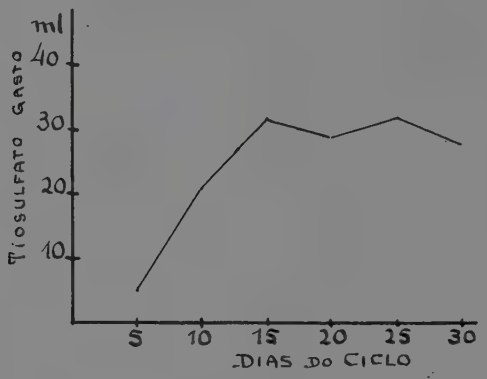


GRAFICO II

Uma eliminação maior e constante de gonadotropinas determinada pelo nosso método, foi encontrada em urina de mulher castrada. Relacionando êste fato com os casos acima descritos fomos levados a supor, que, provàvelmente quando há uma insuficiência ovariana, não havendo substâncias estrogênicas suficientes, a fração folículo-estimulante se elimina em maior quantidade por não ser aproveitada.

Faz-se necessário assinalar que nesses ciclos a eliminação dos estrogênios no período inter-menstrual foi muito pequena, o que se pode verificar no quadro abaixo.

QUADRO II

Substâncias estrogênicas eliminadas em 24 horas no período inter-menstrual

N. de ciclos	Procedência da urina	Idade	Unidades camondonga em 24 horas
2	nulipara	30	14 e 20
1	solteira	39	16
2	primipara	24	16-25
2	primipara	27	25-32
1	solteira	29	14
1	solteira	26	33
4	solteira	30	19-14-20-45
2	solteira	25	30
2	solteira	21	16

Em seis ciclos de três mulheres casadas e nulíparas a eliminação das gonadotropinas foi relativamente constante durante todo o período. Entretanto, tôdas tiveram o fluxo menstrual em períodos de 30 a 32 dias. As medias das frequências acumuladas da excreção das gonadotropinas acham-se indicadas no gráfico III.

Gonadotropinas nos casos de eliminação constante

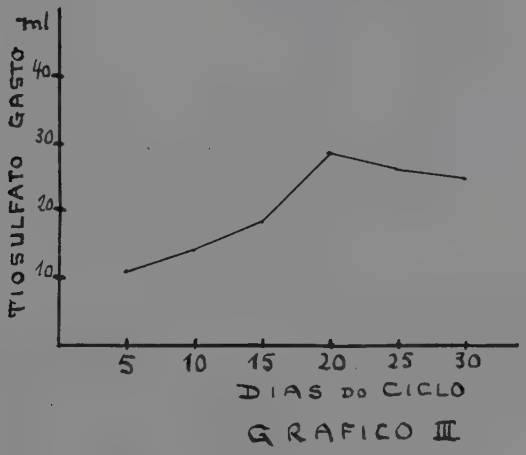


GRAFICO III

As taxas dos estrogênios excretados nestes ciclos encontram-se no Quadro III.

QUADRO III

Substâncias estrogênicas da urina no inter-menstruo nos casos de eliminação constante das gonadotropinas

N. de casos	N. de ciclos	Procedência	Idade	Unidades camondongas em 24 horas
1	2	nulípara	39	65-98
2	2	nulípara	30	40-75
3	2	nulípara	32	95-120

No caso II além dos estrogênios foi também determinada a progesterona pela técnica de Astwood e Jones (4). A eliminação total do 18.º ao 31.º dia do ciclo foi de 12 mg de glicuronato pregnandiol sódico.

ABSTRACT

Gonadotropin elimination during menstrual cycle studied by a chemical test.

A chemical test previously described for the diagnosis of pregnancy was applied to the study of the excretion of gonadotropin in the urine during menstrual cycle. The chemical test is based on the selective adsorption by kaolim of the reducing substances biologically related to urinary gonadotropin. The active substance when acidified to pH 4.0 is adsorbed by the kaolin and eluated with O.1N sodium hydroxide.

The alkaline solution is treated by Somogyi's copper reagent and the excess not reduced is titrated by 0.005 N sodium thiosulfate. Gonadotropin is quantitatively adsorbed by kaolin at pH 4.0 and eluated by alkaline solution as previously demonstrated by the A. (1).

In the present paper the complete menstrual cycle was studied daily. It was observed that normally there are two distinct maxima of excretion. This study is based on 11 normal cycles (24-30 days) and 34 abnormal ones.

Normal cycles showed a intramenstrual estrogens elimination from 200 to 260 mice units determinated by the Allen — Doisy full estrus smear test. The abnormal cycles belonging also to normal women showed much less estrogen excretion (14 to 25 mice units) (Table II). In those cases with decreased estrogen excretion no fall in the curve after the 14 th. day was observed. The A. suggest that the peaks of gonadotropin excretion is not related to the ovulation but possibly due, the first one, to the follicle stimulating hormone and the second to the luteinizing hormone or hormone stimulating of the interstitial tissue.

BIBLIOGRAFIA

1. Mello (M. I.)

   1943. Novo metódo para o diagnóstico da gravidez baseado na determinação química do hormônio gonadotrópico da urina — Rev. Bras. Biol. 3, (1), 119-125.

2. Leiboff (S. L.) e Tamis (A. B.)

   1938. A rapid and simplified method of extracting urinary estrogen. Jour. Lab. Clin. Med. 24, (2), 178-180.

3. D'Amour (F. E.) Funk (D) e Liverman (H).

   1939. Daily gonadotropic hormone tests during fifty complete menstrual cycles. Am. Jour. Obst. Gyn. 37, (6), 940-946.

4. Astwood (E. B.) e Seegar Jones (G. E.)

   1941. A simple method for the quantitative determination of pregnanediol in human urine. Jour. Biol. Chem. 137, (1), 397-407.

Anopheles (Shannoniezia) costalimai **Fonseca e Ramos, 1940, novo nome e a redescrição da espécie** (Diptera-Culicidae)

por

J. O. Coutinho

(Com oito figuras no texto)

Nesta nota damos a descrição da larva, pupa, adulto e redescrição da terminália do macho de *A.* (*Sh.*) *costalimai* (= limai).

A nosso pedido foi proposto pelos autores um nome novo para esta espécie uma vez que o nome *limai* acha-se ocupado com uma variedade de *Anopheles* (*N.*) *albitarsis* Galvão e Lane 1937 (1).

De acôrdo com as regras de nomenclatura zoológica um nome dado a uma espécie ou sub-espécie não poderá mais ser utilizado para outra espécie do mesmo gênero, Ferris 1928 (2) artigos 35-36, por isso deve ser considerado (*limai*) preocupado.

O sub-gênero *Shannoniezia* de Fonseca e Ramos 1940 (3) e (4) é aqui mantido, pois julgamos bons os caracteres de terminália, embora as larvas e adultos estejam perfeitamente enquadrados em *Anopheles*, grupo *Arribalzagia*.

O material aqui utilizado foi colecionado em Paranaguá, Paraná, Brasil. Um macho, duas femeas e uma larva acham-se depositados na coleção de entomologia do Departamento de Parasiotologia da Faculdade de Medicina de São Paulo, mais material acha-se nas coleções do Laboratório de Entomologia do S. N. M. no Rio, Distrito Federal.

Anopheles (*Shannoniella*) *limai* (Fonseca e Ramos, 1940).
Anopheles (*Shannoniezia*) *limai* (Fonseca e Ramos, 1940).
Anopheles (*Shannoniezia*) *costalimai* (Fonseca e Ramos, 1943).

Descrição da fêmea — adulto de tamanho grande apresentando-se com as escamas claras de asas predominantemente amarelas, bem como, amarelas são as escamas que revestem as áreas claras do corpo e principalmente as patas.

Cabeça. Probóscida longa, reta, escamada de negro, labela lanceolada de coloração castanha, as escamas da probóscida são deitadas, com exceção de algumas escamas eretas na base — *Palpos*, ligeiramente mais

curtos que a probóscida, são revestidos de escamas eretas da base ao ápice, 1.º segmento negro, 2.º segmento negro com algumas escamas amarelas na base, face dorsal; 3.º segmento com escamas amarelas na face dorsal da articulação basal, restante escamado de negro, nota-se entre estas algumas escamas amarelas; 4.º e 5.º segmentos escamados de amarelo na face dorsal, face ventral de todos os segmentos negra.

Algumas cerdas amarelas na extremidade do 5.º artículo.

Antena — Tóro esferoide, castanho escuro, tendo na metade superior escamas amareladas; 1.º segmento do flagelo tendo 1/3 apical escamas amareladas em torno do artículo, demais segmentos sem escamas, apresentando cerdas castanho-claras, que são mais longas e mais fortes na articulação dos segmentos — *Clípio* castanho escuro, mais largo que longo — *Vértice* tendo a metade anterior revestida de escamas eretas espatuladas e de ápice rombo, entre os olhos há umas cerdas brancas muito longas e finas que vão tocar os toros antenais; metade posterior ocipute revestido de escamas semelhante as primeiras sendo castanho escuras.

Torax — Lóbo pronotal anterior pequeno e lateral, com escamas castanhas, algumas cerdas douradas, Pleuras de côr castanho escuras tendo a área de união dos escleritos esbranquiçados.

Sternopleura com algumas escamas brancos no centro e na extremidade superior, notam-se também algumas cerdas claras.

Mesonoto castanho com um pontilhado mais escuro, apresenta na parte média duas manchas látero-dorsais e uma outra mancha da mesma côr maior na área preescutelar envolvendo todo o têrço médio do escutélo. Sôbre o mesonoto há um revestimento de cerdas finas douradas, essas cerdas são de aspecto mais pronunciado na área pre-alar do mesonôto onde se encontram também algumas escamas amareladas.

Escutelo castanho escuro com o têrço médio muito escuro, no bordo posterior há cerdas castanho-escuras dispostas em linha.

Metanôto — Castanho e glabro.

Balancins. Com a face superior intensamente revestida de escamas muito alvas, face inferior escura.

Asas. As asas são intensamente marcadas de áreas de escamas escuras e áreas claras, sendo que estas são sempre compostas de escamas amareladas em misturas com escamas escuras, a predominancia de escamas claras da asa é de côr amarelo-ouro, há poucas escamas brancas. As escamas, tanto as escuras como as claras são em forma de balão,

a largura é quase igual a metade do comprimento, principalmente na base da asa. Há sôbre a borda superior da asa três manchas negras muito grandes envolvendo a costa, sub-costa, primeira e segunda nervuras. Essas manchas são formadas por escamas negras e pigmentação da nervura e membrana da asa.

Costa. Base clara seguida de uma área negra até a veia transversa humeral, que é recoberta por escamas negras, segue-se uma pequena área clara, outra mancha negra, uma pequena mancha clara que se liga a primeira mancha negra da borda da asa, uma mancha clara outra negra, separadas da 2.ª mancha negra da borda por algumas escamas claras; segue-se uma área clara grande que vai encontrar a 3.ª grande mancha negra da borda; na curva da extremidade da asas há uma larga área clara, indo até a união da ramo superior da 2.ª nervura com a costa.

Sub-costa. Apresentando uma área clara no 4.º basal, uma mancha negra, segue-se outra área clara, uma segunda mancha negra, o 4.º apical claro.

1.ª nervura apresentando quatro manchas negras separadas por áreas claras.

2.ª nervura, pecíolo com duas manchas negras separada por áreas claras, ramo superior com a metade basal negro e o restante claro, ramo inferior, com uma mancha negra no têrço basal e outra na extremidade apical, separadas essas manchas por uma área clara.

3.ª nervura com uma mancha negra pre-basal e outra pre-ápical restante da nervura clara.

4.ª nervura revestida de escamas claras com algumas escuras até a sua bifurcação, base dos ramos superior é inferior negros, restante claro.

5.ª nervura, de base negra seguida de um área clara até bifurcação, ramo superior com uma mancha negra pre-basal restante claro, ramo inferior negro, metade apical clara.

6.ª veia apresentando cerca de oito manchas negras pequenas separada por áreas de escamas amarelas e brancas.

Patas. As coxas, em todos os pares são castanhos e apresentam escamas amareladas na base e ápice.

Par anterior — fêmures revestidos de escuro sarapintado de áreas amarelas. Tíbia apresentando seis áreas amareladas e cinco negras, ápice e base amarelos.

Tarso II — III e *IV*. Têrço apical e basal amarelos, médio negro.
Tarso V. Inteiramente amarelo.

Par médio. Fêmur e tíbia negros sarapintados de amarelo.

Tarso I. Amarelo com quatro áreas negras estreitas.
Tarsos II — III e *IV*. Escuros, sarapintados de amarelo.
Tarso V. Amarelo.

Par posterior — fêmures negros com sarapintado amarelo.

Tarso I. Mais longo e mais fino que a tíbia, amarelo com uma mancha negra na metade basal e quatro na metade apical.
Tarso II. Amarelo com um anel negro sub-basal e outro no meio.
Tarso III. Amarelo com dois anéis negros, sendo um no terço basal outro no têrço apical.
Tarso IV. Amarelo com um anel negro no meio.
Tarso V. Inteiramente amarelo.

Abdomen. Face dorsal com numerosas cerdas castanho douradas em todos os segmentos, tufos postero-laterais do abdomen presentes do 2° ao 8.° segmentos, formados por escamas escuras, inferiormente, e algumas escamas claras por cima; os tufos do 7.° e 8.° segmentos são muito pronunciados, com predominância de escamas amarelas, cercis revestidas de escamas escuras.

Face ventral. 1.° esternito com um tufo de escamas brancas de cada lado, demais esternitos apresentando escamas claras e escuras.

Machos. Muito semelhante à femea. Diferindo nas antenas que são intensamente plumosas. Palpos negros revestidos de escamas deitadas: 1.° segmento negro — 2.° negro com anel amarelo estreito no ápice e na base — 3.° anel amarelo na base, restantes negros com uma mancha amarela sub apical tomando a face superior de quase todo o terço apical — 4.° segmento amarelo com um anel negro pre-bacal — 5.° amarelo com um anel negro basal, — a face inferior do palpo é negra, apresentando na base do 4.° artículo numerosas cerdas longas e escuras que vão atingir a extremidade do palpo.

As escamas claras da asa são predominantemente brancas.

Terminália do macho:

Pinças-curvas, fortes, longas maiores que as peças laterais.

Peça lateral — de base um pouco mais larga que o ápice, fortemente encurvado para o centro, tendo no bordo externo numerosas

escamas longas estreitas e de ápice cortado reto, na metade apical há numerosas cerdas muito longas, um espinho basal saido de um tuberculo saliente e muito quiti nisado, o espinho é forte, curto, terminando por uma ponta romba achatada, ao nível do espinho basal, próximo do bordo externo há uma cerda longa parecendo um segundo espinho basal. Espinho interno saindo de um tubérculo pequeno no meio do bordo interno da peça lateral, os espinhos são longos, finos, terminando-se por ponta afilada, são do tamanho da metade da peça lateral.

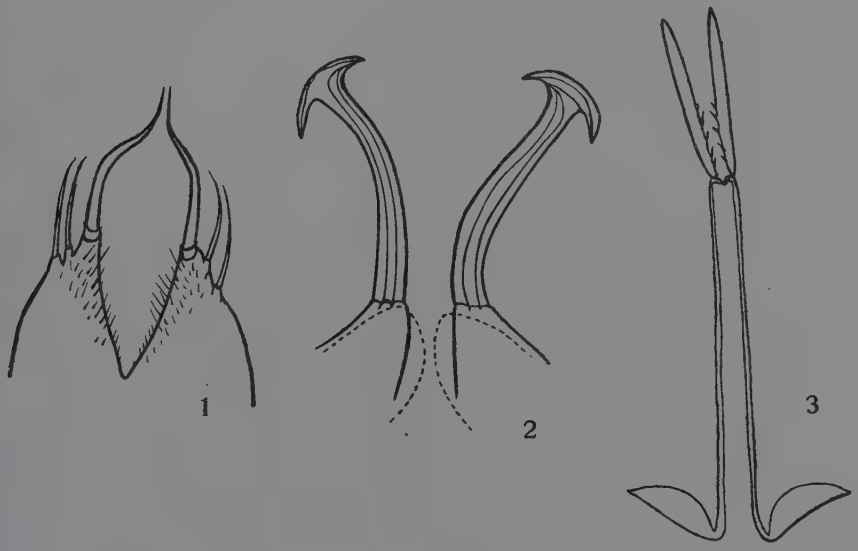


Fig. 1 — *A. (SH.) COSTALIMAI* — Lobo dorsal da pinceta.
Fig. 2 — *A. (SH.) COSTALIMAI* — Lobo ventral da pinceta.
Fig. 3 — *A. (SH.) COSTALIMAI* — Mesosoma.

Lobo dorsal da pincêta, formado por duas formações cônicas um de cada lado, revestido internamente de numerosos pelos, da base ao ápice, face externa mais ou menos glabra, termina-se no ápice por um espinho forte recurvado tocando-se na extremidade com o lado oposto, de cada lado há mais dois espinhos menores, mais finos implantados logo abaixo do espinho apical, ambos no bordo externo. (fig. 1).

Lobo ventral, formado de cada lado por um tubérculo conico, partindo do ápice três folíolos fortes cilindricos, terminados no ápice por uma expansão transversa (fig. 2).

Mesosoma alto e muito estreito terminado por um par de folíolos, longos e muito quitinisados, apresentam êsses folíolos no terço basal do bordo interno um serrilhado de cinco dentes.

O tamanho dêsses folíolos e cerca da metade da altura do mesosoma (fig. 3).

Nono tergito membranoso, apresentando um par de lâminas fortes e quitinisadas voltadas para fora dando um especto divergente (fig. 4).

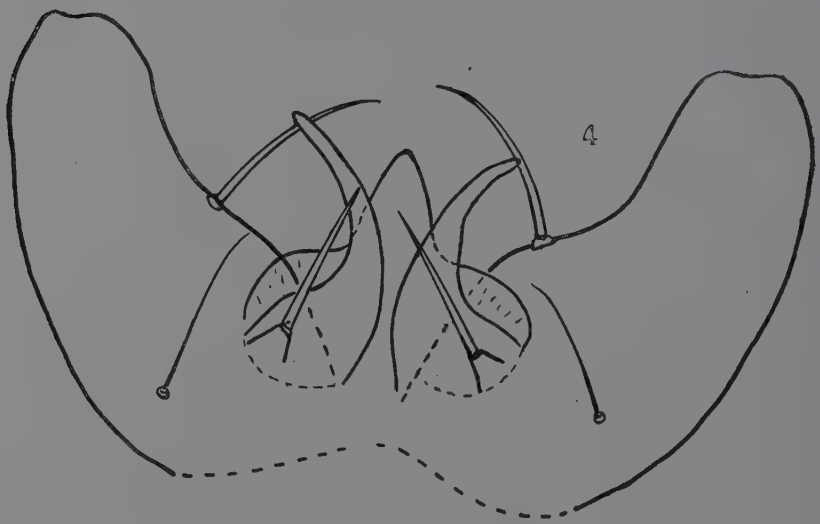


Fig. 4 — *A. (SH.) COSTALIMAI* — Desenho da terminália mostrando o lobo anal e nono tergito com as expansões.

Lobo anal cônico, membranoso hialino, pouco mais abaixo que as lâminas do 9.° tergito, a base do lóbo anal é cheia de pequenos pelos visíveis em aumento grande (fig. 4).

Pupa. Trompa respiratória de forma de um cálice sem pé, tendo no bordo do cálice uma saliência digitiforme (fig. 5).

Abdômen com espinhos póstero-laterais presentes e visíveis do 2.° ao 8.° segmento, o espinho do 2.° segmento é vertigial, vão gradativamente aumentando até o 8.° que é forte, e tendo na metade apical filamentos laterais, espinho da palhêta natatória forte e com ápice ramificado, a borda da palhêta natatória é visivelmente revestida de pelos filamentosos.

Larva. Cabeça — clipiais anteriores internas muito próxima, mais longas que as externas, retas e lisas até a extremidade apical que dá três filamentos. Externas mais curtas que as internas, dicotômicas apresentando 15 filamentos longos, laterais (fig. 6).

Clipiais posteriores muito curtas e finas dando dois ramos na extremidade.

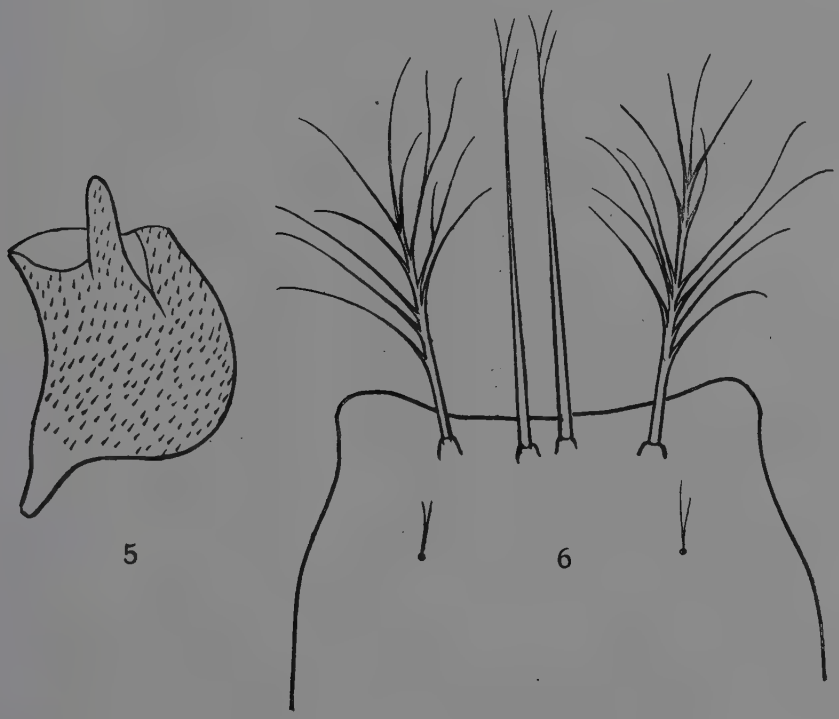


Fig. 5 — *A.* (*SH.*) *COSTALIMAI* — Trompa respiratória da pupa.
Fig. 6 — *A.* (*SH.*) *COSTALIMAI* — Pelos clipiais da larva.

Pelos protorácicos. Grupo sub-mediano. Pêlo interno muito reduzido dando dois filamentos a partir do meio — Médio implantado em pequeno tubérculo dando 10 ramos laterais, externo simples (fig. 7).

Pelos humbrais. Interno forte e curto com ramos laterais a partir da base, dando 15 filamentos, médio largo forte e intensamente ramificado a partir da base, externo muito longo, fino e simples.

Tufos palmados. Presentes no metatórax, muito reduzido e pouco quitinizado.

Pelos palmados abdominais presentes no 1.º e 2.º segmento, muito reduzidos. A partir do 3.º segmento são bem visiveis muito quitinisado, folíolos de ápice serrilhado semelhante a *Anopheles* grupo *Arribalzagia*.

Pelos alongados laterais do abdômen, presentes no 5.º e 6.º segmentos, longos, finos e simples.

Placa postero-espiracular (fig. 8).

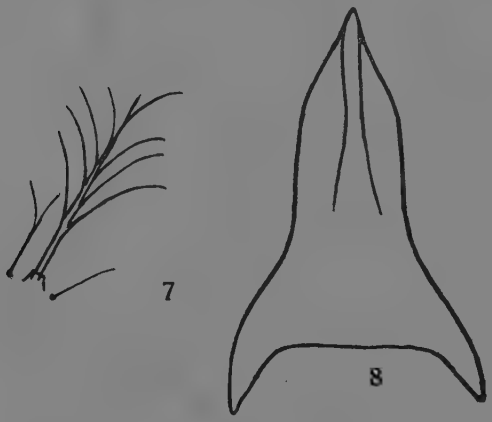


Fig. 7 — *A. (SH.) COSTALIMAI* — Pelos protorácicos sub-medianos da larva.

Fig. 8 — *A. (SH.) COSTALIMAI* — Placa quitinosa portespiracular da larva.

Placa quitinosa dos tergitos abdominais presentes em todos os segmentos, a 8.ª é duas vezes a 7.ª.

Pente do 8.º segmento com sete dentes grandes e dentículos nos espaços que separam os grandes.

Diagnóstico diferencial entre *A. mediopunctatus* e *costalimai*.

Costalimai	*Mediopunctatus*
Asa — Predominância de escamas amarelas. 6.ª veia predominante clara.	Pedrominância de escamas brancas, 6.ª veia predominante negra.
Pata posterior com o 4.º tarso amarelo com um anel negro.	Pata posterior, 4.º tarso amarelo com dois aneis negros.

Lobos dorsais da pincêta conicos muito pilosos, com um espinho terminal longo e curvo, dois espinhos pré-apicais longos, rêtos e finos. Pelos abundantes do ápice à base, principalmente na borda interna.

Lobos ventrais com três folíolos — Mesosoma — com folíolos mais largos e serrilhados.

Lâmina do 9.º tergito divergente e mais curtas.

Lobos dorsais da pincêta quasi cilindricos com um espinho terminal forte, longo e curvo, um espinho preapical interno curto e em forma de gancho, dois mais abaixo, finos e mais longos. Com raros pelos no ápice dos lobos.

Lobo ventral com dois folíolos.

Folíolos do mesosoma estreitos e lisos. Lâminas do 9.º tergito muito longas e retas.

Pela leitura do trabalho de Bonne e Bonne Webster, 1925, vê-se que êles lidaram com duas espécies distintas pelos caracteres do aduto, o desenho e descrição da terminália são pouco concludentes para ser criada uma espécie para seu material.

A. costai Fonseca e Ramos 1940, pelo desenho dos autores parece diferente de *costalimai* e de *mediopunctatus,* deixamos de analisar os seus caracteres neste trabalhos uma vez que não dispomos do material em condições de um exame detalhado.

RESUMO

O autor trabalhando com material de Paranaguá (Paraná, Brasil), identificou varios exemplares de A. (*Sh.*) *costalimai* (=*limai*). Redescreveu a espécie, apresentando descrição da larva e pupa.

Por sua solicitação os autores da espécie propuzeram um nome novo para a espécie por achar-se o nome *limai* ocupado com uma variedade de *A.* (*N*) *albitarsis* descrita por Galvão e Lane, 1937.

Conservou valido o sub-gênero *Shannoniezia* criado por Fonseca e Ramos 1940. Discute no trabalho o diagnóstico diferencial entre *A.* (*Sh.*) *costalimai* e *A.* (*Sh.*) *mediopunctatus.*

Refere-se de passagem a *A.* (*Sh.*) *costai* não opina por sua validade. Refere-se ao material com que trabalharam Bonne e Bonne Webster achando que estes autores trabalharam com mais de uma espécie, pois não há concordância nas descrições para especimens de localidades diversas.

SUMMARY

The A. has identified several samples of *A.* (*Sh.*) *costalimai* (= *limai*), working with material from Paranaguá, Paraná, BRAZIL. He redescribed the species and gave a description of the larvae and pupa.

The creators of the species were notified by the A. that the name *limai* is preoccupied by an identical name given to variety of *A.* (*N.*) *albitarsis* described by Galvão & Lane in 1937, and suggested the new name for it, used in this paper.

The A. has mantained the subgenus *Shannoniezia* that was brought forth by Fonseca and Ramos in 1940.

In this work the A. discusses the differential diagnosis between *A.* (*Sh.*) *costalimai* and *A.* (*Sh.*) *mediopunctatus*. He only refers incidently to *A.* (*Sh.*) *costai* and does not give his opinion towards validity. He speaks about the material with which Bonne and Bonne-Webster worked and he thinks that they worked with more than one species because there is no agreement in their descriptions of specimens of different places.

BIBLIOGRAFIA

1) Galvão, A. L. A. e Lane.

1937. Notas sobre *Nyssorhynchus* de São Paulo.
VII — Estudo sobre as variedades dêste grupo, com a descrição de *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *arbitarsis* Arrib. 1878 Var. *limai* nov. var.
An. Fac. Med. Mem. S. Paulo, 13 : 211 — 258.

2) Ferris, G. G.

1928. The Principles of Systematic Entomology págs. 143-144.

3) Fonseca, F. e Ramos, A. S.

1940. Novo sub-genero e novas espécies de Anofelineos neotrópicos — *Diptera-Culicidae*.
Mem. Inst. Butantan, XIII : 383-391.

4) Fonseca, F. e Ramos, A. S.

1940. *Shannoniezia* novo nome de *Diptera-Culicidae*.
Rev. Ent. 11 (3) : 967.

5) Bonne, C. and Bonne Webster.

1925. Mosquitoes of Surinam págs. 538-541.

Lesões do ciático na infecção experimental de cães pelo Schizotrypanum cruzi (*)

(Nota prévia)

por

Antonio Couceiro

(Com 12 figuras no texto)

No curso de infecções experimentais de cães pelo *Schizotrypanum cruzi*, com o fim de determinarmos a "Paralisia Experimental" tão bem descrita por VILLELA, E., e TORRES, M., tivemos oportunidade de estudar os nervos periféricos de alguns dêstes animais. Era nossa crença que os nervos periféricos desempenhassem um papel de certo relêvo na genese dos sintomas clínicos apresentados pelos animais em avançado estado de infecção, nosso propósito era esclarecer até onde podiam ser responsabilizados os nervos periféricos. Infelizmente, tivemos de interromper o trabalho que haviamos iniciado em fevereiro de 1942 e só neste momento nos foi possível examinar o material então colhido e divulgar nossas primeiras verificações. Recomeçamos nossas inoculações e pensamos, em futuro bem próximo, poder retomar material necroscópico e dados clínicos capazes de nos permitirem estudos mais detalhados, melhor sistematização na apreciação dos fenômenos clínicos e a necessária relação dos sintomas às lesões porventura encontradas.

Pensamos que a subordinação dos sintomas clínicos apresentados no decurso de comprometimento dos nervos periféricos em relação aos sintomas de ordem medular ou de segmentos mais evoluídos do sistema nervoso central, em face de uma infecção generalizada do sistema nervoso, foi a principal causa de permanecerem até hoje sem estudo os nervos periféricos. Somente a existência de sintomas gritantes de comprometimento de níveis mais elevados do sistema nervoso poderia escurecer a participação da porção periférica dêste sistema. Não encontramos em tôda a literatura médica de nosso conhecimento a menor citação às lesões dos nervos periféricos quer na Doença de Chagas, quer na Paralisia Experimental.

(*) Trabalho realizado no S. E. G.E. do Instituto Oswaldo Cruz, em colaboração com o Laboratório de Biofísica da Fac. Nac. de Medicina, e subvencionado por Guilherme Guinle.

* Recebido para publicação a 17 de dezembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

O número de nossas observações é evidentemente pequeno — quatro cães de uma série de seis inoculados com *Schizotrypanum cruzi* retirado por xeno de dois tatús expontâneamente infetados, por nós trazidos de Lassance. Os dois outros cães falaceram por moléstia intercorrente, antes de apresentarem tripanosomas no sangue periférico. Dos quatro que nos forneceram material necroscópico, dois apresentaram paresia nos membros posteriores. Dois outros morreram em profunda adinamia, sem fenômenos neurológicos, em caquexia extrema.

Não faremos descrição das lesões encontradas em outras porções do sistema nervoso central, nem dos vários órgãos da economia. São lesões se-

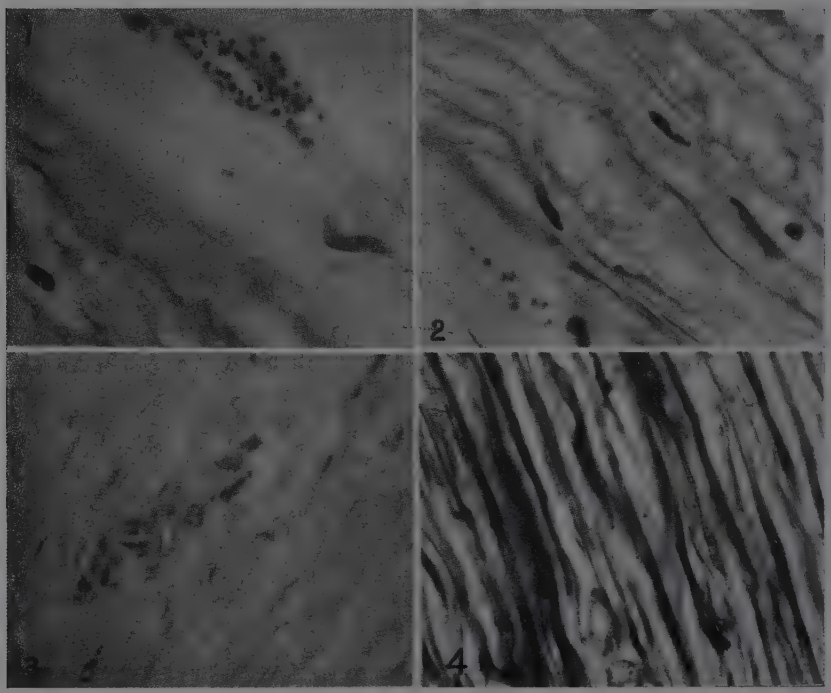


Fig. 1 — *Cão* 1549: Ciático. Aglomerado de leishmanias no interior de célula conjuntiva do perineurio. (Hemat.-Eosina. 10 × imersão.

Fig. 2 — *Cão* 1549: Leishmanias no perineurio. (Hemat.-Eosina). 10 × imersão.

Fig. 3 — *Cão* 1549: Ciático. Discreto infiltrado em um dos vasanervorum, com raras leishmanias. (Hemat.-Eosina). 10 × 45.

Fig. 4 — *Cão* 1548: Outro segmento do ciático. Impregnação dos cilindro-eixos pelo Bielschowski-Gross. 10 × imersão.

melhantes às já descritas dezenas de vêzes. A intensidade destas lesões correu paralelo com a intensidade das lesões encontradas nos ciáticos. O pequeno número de nossas observações apenas nos permite enumerar as lesões por nós encontradas.

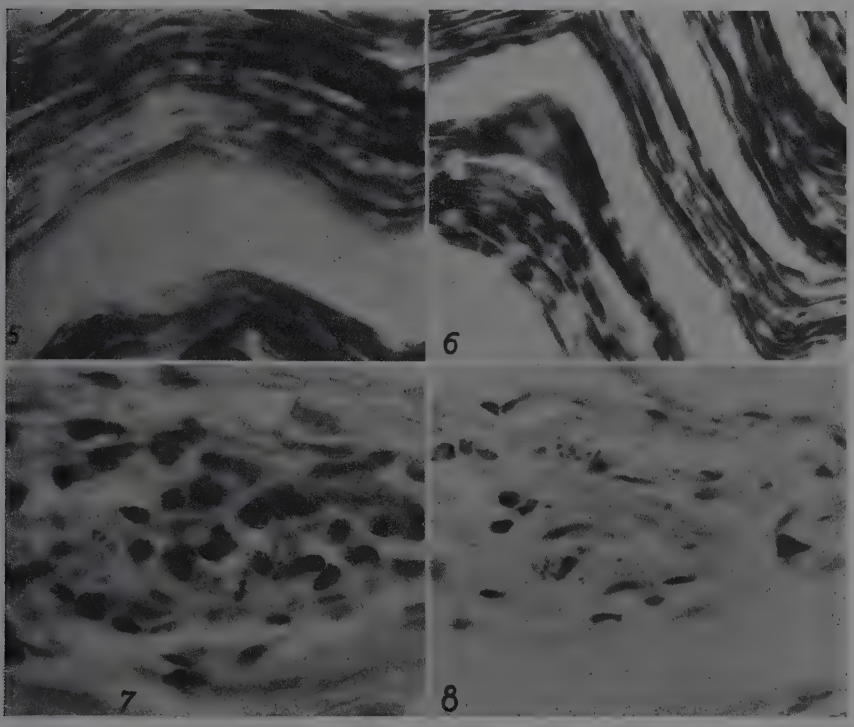


Fig. 5 — *Cão* 1548: Ciático. Coloração das bainhas mielínicas pelo Friedrichsberg. 10 × 45.

Fig. 6 — *Cão* 1548: Ciático. Outro segmento. Mesma coloração. 10 × 45.

Fig. 7 — *Cão* 1548: Ciático. Um dos vasa-nervorum com abundante proliferação de células periteliais e células da bainha conjuntiva endoneural. Número apreciável de leishmanias. (Hemat.-Eosina. 10 × Imersão.

Fig. 8 — *Cão* 1548: Pequeno ramo do ciático. Leishmanias no interior de células da bainha endoneural. (Hemat.-Eosina). 10 × imersão.

Macroscòpicamente os nervos ciáticos não apresentam indícios de qualquer processo inflamatório ou degenerativo.

O exame histológico, logo com o pequeno aumento, torna patente a existência de um processo infiltrativo perivascular da maior parte dos vasos que correm tanto nas bainhas conjuntivas como nos espaços interfasciculares. A

intensidade e extensão dêste processo infiltrativo é variável nos varios casos que observamos. Em dois dos cães (1.548 e 1.580) a perivascularite se encontra quase que em todos os vasos, seja qual fôr seu diâmetro. Há proliferação do endotélio e do peritélio. Ambos são sede de ninhos de leishmanias.

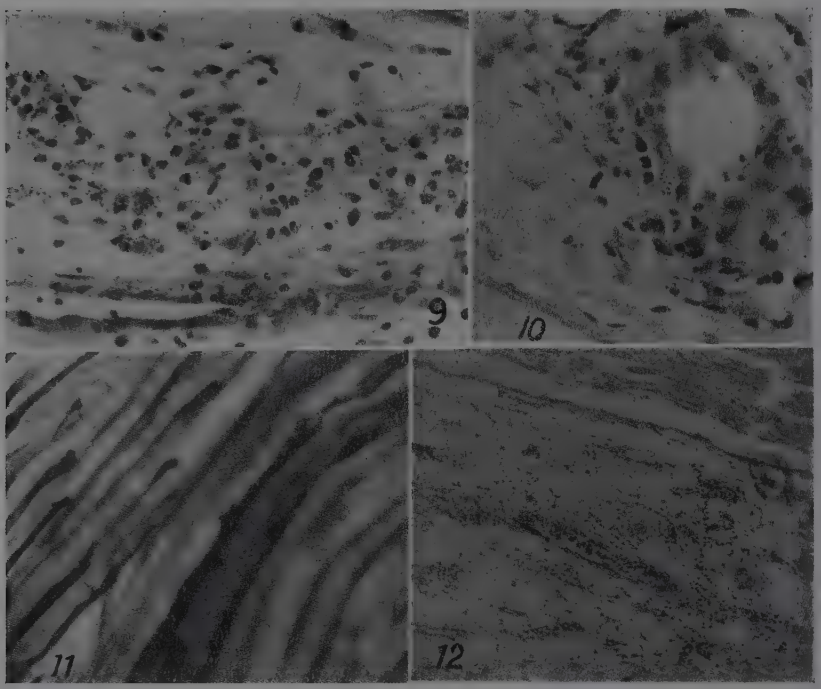


Fig. 9 — *Cão* 1580: Ciático. Tecido interfascicular com numerosos ninhos de leishmanias. (Hemat.-Eosina). 10 × 45.

Fig. 10 — *Cão* 1580: Córte transverso do ciático. Numerosas leishmanias na bainha perineural e em torno de um vaso. (Hemat.-Eosina). Aumento 10 × 45.

Fig. 11 — *Cão* 1548: Ciático. Impregnação dos cilindro-eixos método de Bielschowski-Gross. 10 × 45.

Fig. 12 — *Cão* 1580: Córte longitudinal do ciático. Infiltração perivascular no tecido interfascicular. (Hemat.-Eosina). 10 × 10.

Estes ninhos também se encontram em elementos histiocitários mais distantes da luz vascular, e ainda em lipoblastos, e células conjuntivas do perinéurio e do endonéurio. Alguns capilares se mostram nitidamente obliterados. A presença de leishmanias parece decrescer do tecido conjuntivo frouxo, para as células da bainha perineural e endoneural, e para o espaço perivascular dos

pequenos vasa nervorum situados no interior dos feixes nervosos. Nas células do perinéurio as leishmanias tendem a se distribuir longitudinalmente, em vez das massas arredondadas como se apresentam nas células do tecido frouxo ou mesmo nos pequenos focos intrafasciculares.

As bainhas de mielina, coradas pelo método de Friedrichsberg, se mostram tumefeitas, sem o aspecto típico, com bainhas pouco coradas a se alternarem com outras de coloração habitual, com zonas de adelgaçamento. A coloração pelo Sudan ou pelo Scarlach é negativa para a existência de gordura.

O método de Bielschowski-Gross impregna cilindro-eixos de diâmetros irregulares, com áreas de tumefação seguidas por outras afiladas. Não ha fragmentação dos cilindro-eixos.

O quadro histológico é de uma neurite predominantemente intersticial, com indícios de uma lesão primária das bainhas de mielina.

Não temos elementos para pensar na existência de um verdadeiro neurotropismo por parte do *Schizotrypanum cruzi* inoculado. Achamos, antes, que o comprometimento do sistema nervoso é um acontecimento concomitante com o comprometimento dos demais sistemas. No momento, com o auxílio da cultura de tecidos, nos propomos a abordar a questão com maior delicadeza. Para nós, ainda, o mais acentuado acometimento do sistema nervoso periférico em animais adultos, deve ser olhado como resultante de uma maior eficiência da barreira pio-glial que defende o sistema nervoso central.

SUMMARY

The A. relates histologic lesions found in sciatic nerves of dogs experimentally infected with *Schizotrypanum cruzi*. He points out the possibility of the peripheral nervous system playing a role in the neuropathologic pattern of the Experimental Paralysis described by Villela. E. e Torres, M.

BIBLIOGRAFIA

VILLELA, E., e TORRES, M.
1925. C. R. Soc. Biol., T. 93, n.21.

VILLELA, E., e TORRES, M.
1926. M. I. O. C., T. 19, fasc. II, 177.

ERRATA

Corrigir no artigo "Sôbre a dosagem fluorométrica da riboflavina na urina", de Gilberto G. Villela publicado no Tomo 37, fasc. 3, 1942, das Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, o gráfico da pág. 431. Na linha das abcissas em lugar de 0,1 — 0,2 — 0,3 — 0,4 — 0,5 leia-se 1 — 2 — 3 — 4 — 5 gamas de riboflavina para 1 cm3.

45/3 P6